



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ETIOLOGIA DAS CONJUNTIVITES FELINAS E ABORDAGEM AO SEU DIAGNÓSTICO

DANIELA MARREIROS DA PALMA AMOR

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes
de Melo

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

ORIENTADOR

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ETIOLOGIA DAS CONJUNTIVITES FELINAS E ABORDAGEM AO SEU DIAGNÓSTICO

DANIELA MARREIROS DA PALMA AMOR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes
de Melo

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

ORIENTADOR

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

2014

LISBOA

Ao meu avô Leonel.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Diogo Magno, por ter aceitado ser meu orientador e pela simpatia com que me recebeu, por todos os conhecimentos transmitidos e por todo o apoio e disponibilidade demonstrada.

À Professora Doutora Esmeralda Delgado, minha co-orientadora, pelas valiosas sugestões, pela paciência, pela disponibilidade demonstrada e por todo o apoio e incentivo transmitidos ao longo da elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Jorge Cid, por me ter cedido a oportunidade de realizar o meu estágio no Hospital Veterinário no Restelo. Agradeço a toda equipa médica e auxiliar que o constitui, por todos os ensinamentos e pelo exemplo de excelência e dedicação nos cuidados prestados a todos os animais.

Ao Professor Telmo Nunes, pela ajuda no tratamento estatístico dos dados.

Aos meus pais, que me permitiram chegar até aqui. Obrigado por me apoiaram, por acreditaram em mim e confiarem nas minhas decisões. Ao meu irmão, pela amizade, serenidade e por todos os momentos em que me encorajou a avançar. Aos meus avós, especialmente ao meu avô Leonel, por saber o quanto era importante para ele presenciar este momento.

Às minhas colegas de estágio, Ana, Madalena, Rita, com quem partilhei as alegrias, as minhas dificuldades e fragilidades e que sempre me ouviram e ajudaram. Obrigado pela amizade!

Aos colegas que me acompanharam durante estes anos de curso, especialmente à Sílvia e à Inês, que me apoiaram nas piores fases do curso.

Às minhas amigas de longa data, Júlia, Mónica, Soraia e Susana, pela amizade e pelo apoio incondicional.

À Dra. Ana Botas, que foi uma ajuda preciosa nesta fase, que me proporcionou serenidade e que me ajudou a encontrar, a compreender e a aceitar o “porquê” e o “para quê”.

ETIOLOGIA DAS CONJUNTIVITES FELINAS E ABORDAGEM AO SEU DIAGNÓSTICO

RESUMO

A conjuntivite é uma doença ocular frequente no gato. A maioria das conjuntivites são infecções primárias causadas particularmente pelo herpesvírus felino-1 (HVF-1) e pela *Chlamydophila felis* (*C. felis*). Outros microrganismos envolvidos incluem o *Mycoplasma felis* (*M. felis*) e o calicivírus felino (CVF).

O objectivo deste estudo retrospectivo é contribuir para a caracterização das conjuntivites felinas na população em estudo, estudando os principais agentes patogénicos da conjuntiva, o HVF-1, a *C. felis*, o *M. felis* e o CVF. Foram analisados os parâmetros raça, género, idade, estado vacinal, tipo de vida, rastreio de FIV e FeLV, sinais clínicos oculares e do tracto respiratório superior, resultados dos testes de diagnóstico e tratamento prescrito.

A população em estudo consistiu em 54 gatos com conjuntivite que se apresentaram à consulta de Oftalmologia num hospital veterinário de Lisboa entre 2010 e 2013.

Material e métodos: A colheita de amostras conjuntivais para realização de PCR *real-time* foi efectuada com uma zaragatoa no fundo de saco conjuntival inferior. Foi utilizado o PCR *real-time* para detecção de HVF-1 (n=31), de *C. felis* (n=21), de *M. felis* (n=7) e de CVF (n=7). A colheita de amostras conjuntivais para realização de citologia conjuntival (n=28) foi realizada após anestesia tópica ocular com oxibuprocaina, sendo obtidas com uma escova de citologia deslizada sobre a conjuntiva palpebral inferior. As lâminas foram coradas com Giemsa.

Resultados: O HVF-1 foi detectado em 10/31 gatos (32,3%) e a *C. felis* em 3/21 (14,3%). O *M. felis* e o CVF não foram detectados em nenhum gato afectado (0/7). Inclusões interpretadas como inclusões de *C. felis* foram detectadas em todos os gatos positivos a *C. felis* por PCR e num negativo. Não foram detectados corpos de inclusão de *Mycoplasma* spp. no exame citológico.

O diagnóstico etiológico é importante para a escolha da melhor abordagem terapêutica na conjuntivite felina mas não é possível determinar a etiologia apenas com base nos sinais clínicos. O PCR *real-time* é vantajoso e constitui uma boa abordagem para o diagnóstico etiológico. A citologia conjuntival pareceu ser uma ferramenta de diagnóstico útil na infecção por *C. felis*. Na impossibilidade de realização destes testes, a abordagem é baseada na história e sinais clínicos e na resposta à terapêutica.

Palavras-chave: conjuntivite, herpesvírus felino-1, *Chlamydophila felis*, *Mycoplasma felis*, calicivírus felino, PCR, citologia conjuntival

ETIOLOGY AND DIAGNOSTIC APPROACH OF FELINE CONJUNCTIVITIS

ABSTRACT

Conjunctivitis is a very common ocular disease in cats. Most cases of conjunctivitis are primary infections associated with feline herpesvirus-1 (FHV-1) and *Chlamydophila felis* (*C. felis*). Other microorganisms involved are *Mycoplasma felis* (*M. felis*) and feline calicivirus (FCV).

The aim of this retrospective study is to contribute to feline conjunctivitis characterization in the studied population, investigating the major conjunctival pathogens, FHV-1, *C. felis*, *M. felis* and FCV. The following parameters were analyzed: breed, sex, age, vaccination status, habitat, FIV and FeLV status, ocular and upper respiratory tract clinical signs, results of diagnostic tests and treatment.

The studied population included 54 cats with conjunctivitis that attended the Ophthalmology Referral Consult at a veterinary hospital in Lisbon between 2010 and 2013.

Materials and methods: Conjunctival samples for real time PCR were collected by rolling a cotton swab along the inferior conjunctival sac. PCR analysis for presence of FHV-1 (n=31), *C. felis* (n=21), *M. felis* (n=7) and FCV (n=7) was performed. Conjunctival samples for conjunctival cytology (n=28) were collected under topical anesthetic with oxybuprocaine chlorhydrate, by rolling a cytobrush along the inferior palpebral conjunctiva. Conjunctival smears were stained with Giemsa.

Results: FHV-1 was detected in 32,3% (10/31) and *C. felis* in 14,3% (3/21) of the cats. *M. felis* and FCV were not detected in any affected cat. Inclusions interpreted as chlamydial inclusions were detected in all cytologic smears from cats positive for *C. felis* by PCR and in one negative cat. *Mycoplasma* spp. inclusion bodies were not detected on cytologic examination.

In feline conjunctivitis, an etiologic diagnosis is important for choosing therapeutical approach, but it is not possible to determine the etiology based on clinical signs. The real-time PCR is useful in the etiologic diagnosis. Conjunctival cytology seemed to be a good diagnostic tool for *C. felis* infection. When it is not possible to perform these tests, we must choose therapeutics based on history and clinical signs and response to therapy.

Keywords: conjunctivitis, feline herpesvirus-1, *Chlamydophila felis*, *Mycoplasma felis*, feline calicivirus, PCR, conjunctival cytology

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE GERAL.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
I. BREVE DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO.....	1
II. ETIOLOGIA DAS CONJUNTIVITES FELINAS E ABORDAGEM AO SEU DIAGNÓSTICO.....	3
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. Introdução.....	3
1.2. Anatomofisiologia da Conjuntiva.....	4
1.3. Conjuntivite.....	5
1.3.1. Sinais clínicos de conjuntivite.....	5
1.3.2. Diagnóstico.....	6
1.3.2.1. Exame oftalmológico.....	7
1.3.2.1.1. Teste de Schirmer.....	7
1.3.2.1.2. Exame da conjuntiva.....	7
1.3.2.1.3. Corantes oculares.....	8
1.3.2.2. Diagnóstico laboratorial.....	8
1.3.2.2.1. Colheita de amostras.....	8
1.3.2.2.2. Citologia.....	9
1.3.2.2.3. Cultura.....	10
1.3.2.2.4. PCR.....	11
1.3.2.2.5. Serologia.....	11
1.3.3. Diagnóstico diferencial.....	11
1.4. Conjuntivites Infecciosas.....	12
1.4.1. Herpesvírus felino-1.....	12
1.4.1.1. Etiologia.....	12
1.4.1.2. Epidemiologia.....	13
1.4.1.3. Patogénese.....	13
1.4.1.4. Sinais clínicos.....	15
1.4.1.5. Doenças associadas ao HVF-1.....	17

1.4.1.6.	Diagnóstico.....	17
1.4.1.6.1.	Detecção de antígeno	18
1.4.1.6.2.	Detecção de anticorpo.....	19
1.4.1.7.	Tratamento	20
1.4.1.8.	Prognóstico.....	24
1.4.1.9.	Prevenção e controlo	24
1.4.1.10.	Importância na Saúde Pública	25
1.4.2.	<i>Chlamydophila felis</i>	25
1.4.2.1.	Etiologia.....	25
1.4.2.2.	Epidemiologia	26
1.4.2.3.	Patogénese	27
1.4.2.4.	Sinais clínicos.....	28
1.4.2.5.	Diagnóstico.....	29
1.4.2.5.1.	Detecção de antígeno	29
1.4.2.5.2.	Detecção de anticorpo.....	30
1.4.2.6.	Tratamento	30
1.4.2.7.	Prognóstico.....	32
1.4.2.8.	Prevenção e controlo	32
1.4.2.9.	Importância na Saúde Pública	32
1.4.3.	<i>Mycoplasma spp.</i>	33
1.4.3.1.	Etiologia.....	33
1.4.3.2.	Epidemiologia	33
1.4.3.3.	Patogénese	33
1.4.3.4.	Sinais clínicos.....	35
1.4.3.5.	Diagnóstico.....	35
1.4.3.5.1.	Detecção de antígeno.....	35
1.4.3.6.	Tratamento	36
1.4.3.7.	Prevenção e controlo	36
1.4.3.8.	Importância na Saúde Pública	37
1.4.4.	Calicivírus felino.....	37
1.4.4.1.	Etiologia.....	37
1.4.4.2.	Epidemiologia	37
1.4.4.3.	Patogénese	38
1.4.4.4.	Sinais clínicos.....	39
1.4.4.5.	Diagnóstico.....	40
1.4.4.5.1.	Detecção de antígeno	40

1.4.4.5.2.	Detecção de anticorpo.....	41
1.4.4.6.	Tratamento	41
1.4.4.7.	Prevenção e controlo	42
1.4.5.	Conjuntivite bacteriana	42
1.4.6.	Conjuntivite parasitária	43
1.4.7.	Conjuntivite fúngica	44
1.5.	Conjuntivites Não Infecciosas	45
1.5.1.	Queratoconjuntivite eosinofílica felina.....	45
1.5.1.1.	Etiopatogénese.....	45
1.5.1.2.	Apresentação clínica	45
1.5.1.3.	Diagnóstico.....	46
1.5.1.4.	Tratamento	47
1.5.1.5.	Prognóstico.....	47
1.5.2.	Queratoconjuntivite seca	48
1.5.2.1.	Etiologia.....	48
1.5.2.2.	Apresentação clínica	49
1.5.2.3.	Diagnóstico.....	49
1.5.2.4.	Tratamento	49
1.5.2.5.	Prognóstico.....	50
1.5.3.	Conjuntivite lipogranulomatosa	50
1.5.4.	Conjuntivite alérgica	51
2.	OBJECTIVOS	53
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.1.	População em estudo	53
3.2.	Colheita de amostras	54
3.3.	Análise estatística	54
4.	RESULTADOS	55
4.1.	Caracterização da população em estudo.....	55
4.1.1.	Raça.....	55
4.1.2.	Género	55
4.1.3.	Idade	55
4.1.4.	Vacinação.....	56
4.1.5.	Habitat.....	56
4.1.6.	Infecção por FIV ou por FeLV	56
4.2.	Sinais clínicos	56
4.2.1.	Sinais oculares	56

4.2.2.	Sinais do tracto respiratório superior.....	58
4.3.	Métodos de diagnóstico laboratorial.....	58
4.3.1.	Resultados do PCR <i>real-time</i>	58
4.3.2.	Resultados da citologia conjuntival	59
4.3.3.	Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR	60
4.4.	Tratamento	60
4.5.	Características associadas aos gatos PCR-positivos a HVF-1 (n=10)	60
4.6.	Características associadas aos gatos PCR-positivos a <i>Chlamydomphila felis</i> (n=3).....	62
5.	DISCUSSÃO.....	63
5.1.	Caracterização da população em estudo	63
5.2.	Métodos de diagnóstico laboratorial.....	65
5.2.1.	PCR <i>real-time</i>	65
5.2.2.	HVF-1	66
5.2.3.	<i>Chlamydomphila felis</i>	67
5.2.4.	<i>Mycoplasma felis</i>	68
5.2.5.	Calicivírus felino.....	69
5.3.	Citologia conjuntival.....	69
5.4.	Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR <i>real-time</i>	71
5.5.	Tratamento	71
5.6.	Características associadas aos gatos PCR-positivos a HVF-1 (n=10)	72
5.7.	Características associadas aos gatos PCR-positivos a <i>C. felis</i> (n=3).....	74
5.8.	Limitações do estudo	75
6.	CONCLUSÃO	77
	BIBLIOGRAFIA.....	79
	ANEXOS.....	95
	Anexo 1: Tabela com testes de PCR <i>real-time</i> realizados.	95
	Anexo 1: (continuação) Tabela com testes de PCR <i>real-time</i> realizados.....	96
	Anexo 2: Tabelas de contingência das variáveis categóricas investigadas.....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomia da conjuntiva: conjuntiva palpebral (A), conjuntiva bulbar (B), fórnix dorsal (C), fórnix ventral (D), superfície bulbar ou posterior da membrana nictitante (E) e superfície palpebral ou anterior da membrana nictitante (F) (Adaptado de Gelatt & Brooks, 2011).	4
Figura 2. Gato com conjuntivite. Notar a presença de hiperémia conjuntival, quemose e corrimento ocular (adaptado de Ketring & Glaze, 2012; utilizada com permissão).	5
Figura 3. Instrumentos utilizados para colheita de amostras citológicas e microbiológicas a partir de tecidos da superfície ocular: (A) zaragatoa; (B) espátula de Kimura, extremidade romba de lâmina de bisturi; escova de citologia (Adaptado de Maggs, 2008a; Featherstone & Heinrich, 2013).	9

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de classificação da conjuntivite (Adaptado de Maggs, 2013a).	5
Tabela 2. Características clínicas da queratoconjuntivite infecciosa felina (Adaptado de Maggs, 2008b).	18
Tabela 3. Frequência de gatos positivos a HVF-1, <i>C. felis</i> , <i>M. felis</i> e CVF por PCR <i>real-time</i>	59
Tabela 4. Resultados do exame citológico conjuntival nos gatos com conjuntivite.	59
Tabela 5. Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR <i>real-time</i>	60
Tabela 6. Classificação do corrimento ocular (n=6).	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição da raça nos gatos com conjuntivite (n=54).	55
Gráfico 2. Distribuição da idade na população em estudo (n=54).	56
Gráfico 3. Sinais clínicos oculares encontrados nos gatos com conjuntivite (n=54).	57
Gráfico 4. Classificação do corrimento ocular (n=34).	58
Gráfico 5. Sinais clínicos oculares associados à infecção por HVF-1 (n=10).	61

LISTA DE ABREVIATURAS

AAFP	<i>American Association of Feline Practitioners</i>
ABCD	<i>European Advisory Board on Cat Diseases</i>
AINE	Anti-inflamatório não esteróide
CE	Corpo elementar
CR	Corpo reticulado
CVF	Calicivírus felino
DNA	Ácido desoxirribonucleico (<i>Deoxyribonucleic acid</i>)
DPC	Doméstico de Pêlo Curto
ECG	Electrocardiograma
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FeLV	Vírus da leucemia felina (<i>Feline leukemia virus</i>)
FIV	Vírus da imunodeficiência felina (<i>Feline immunodeficiency virus</i>)
HVF-1	Herpesvírus felino-1
HVR	Hospital Veterinário do Restelo
HVS-1	Herpesvírus <i>simplex</i> -1
IFA	Imunofluorescência (<i>Immunofluorescent antibody</i>)
IFN	Interferão (<i>Interferon</i>)
IL	Interleucina
LAT	<i>Latency-associated transcript</i>
MDA	Anticorpos de origem materna (<i>maternally derived antibody</i>)
MIMV	Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
PAAF	Punção aspirativa com agulha fina
PCR	Reacção em cadeia da polimerase (<i>Polymerase chain reaction</i>)
PO	Por via oral (<i>per os</i>)
q	Cada
QCE	Queratoconjuntivite eosinofílica felina
QCS	Queratoconjuntivite seca
rFeIFN- α	Interferão-alfa recombinante humano (<i>Recombinant human interferon-alpha</i>)
rHuIFN- ω	Interferão-ómega recombinante felino (<i>Recombinant feline interferon-omega</i>)
RNA	Ácido ribonucleico (<i>Ribonucleic acid</i>)
RT	Transcriptase reversa (<i>Reverse transcriptase</i>)
RT-PCR	<i>Reverse transcriptase - polymerase chain reaction</i>
SC	Via subcutânea
TAC	Tomografia axial computadorizada

TSA	Teste de sensibilidade a antibióticos
VSD	Doença virulenta sistémica (<i>Virulent systemic disease</i>)
VS-FCV	Calicivírus felino virulento sistémico (<i>Virulent systemic feline calicivirus</i>)
WSAVA	<i>World Small Animal Veterinary Association</i>

I. BREVE DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) foi realizado na área da medicina interna e cirurgia de animais de companhia. As actividades do estágio curricular foram realizadas no Hospital Veterinário do Restelo (HVR) nos períodos compreendidos entre 1 de Outubro de 2013 e 28 de Dezembro de 2013 e entre 1 de Março de 2014 e 31 de Maio de 2014, sob a orientação do Dr. Diogo Magno.

O estágio foi efectuado num horário rotativo, que incluiu turnos diurnos, nocturnos, fins-de-semana e feriados, com uma carga horária de 40 horas semanais. Os turnos diurnos englobaram os seguintes horários:

Consultas: 9h – 18h; 11h – 20h; 14h – 22h; 16h – 00h;

Internamento: 9h – 15h; 15h – 21h; 9h – 21h;

Laboratório: 9h – 13h;

Turno nocturno: 17.30h – 9.30h.

Por forma a possibilitar a participação em todas as áreas que integram a actividade hospitalar, a cada 2 semanas cada estagiário acompanhou rotativamente um Médico Veterinário residente do HVR. No estágio foi possível acompanhar e colaborar nos serviços de consultas de medicina interna e de especialidade, cirurgia, internamento, emergências, imagiologia e serviço de laboratório e análises clínicas. Pontualmente, também foi possível acompanhar o serviço prestado ao domicílio. Os canídeos e os felídeos foram as espécies mais frequentes na consulta. No entanto, revelando a popularidade crescente dos novos animais de companhia, várias espécies foram acompanhadas, incluindo o coelho, a chinchila, o hamster anão, a iguana verde, a tartaruga, o papagaio e a caturra.

Nas consultas de medicina interna e de especialidade foi possível acompanhar, auxiliar ou realizar a anamnese, exame físico, contenção, exames complementares de diagnóstico, colheita de amostras biológicas (sangue, urina, punção aspirativa com agulha fina (PAAF) para citologia ou histopatologia, entre outras) para análise laboratorial e, dependendo do caso, instituição da terapêutica. No final de cada consulta era realizada uma pequena discussão sobre os diagnósticos diferenciais e plano terapêutico instituído. As consultas de reavaliação e tratamento englobaram consultas pós-cirúrgicas, de monitorização do paciente, e tratamentos prescritos no seguimento de consultas prévias, incluindo a acupunctura e também os tratamentos de hemodiálise. As consultas de medicina preventiva incluem as vacinações, aplicação de *microchip* e desparasitações.

Na imagiologia foi permitido auxiliar na realização de radiografias digitais, ecografias abdominais e ecocardiografias. Para além destes exames, foi possível contactar com outros exames, tais como, ecografia ocular, endoscopia e tomografia axial computadorizada (TAC). Na radiologia foi possível praticar o posicionamento do animal e interpretação da imagem

radiológica juntamente com o médico veterinário. Na ecografia foi possível assistir e fazer a identificação das diferentes estruturas e a avaliação da ecomorfologia, em conjunto com o médico veterinário.

No serviço de cirurgia foi possível acompanhar e participar nas várias tarefas tais como: realização dos exames pré-anestésicos, preparação pré-cirúrgica do animal (preparação e administração da pré-medicação e anestesia, tricotomia, lavagem e desinfecção do animal), monitorização anestésica, ajudante de cirurgião e acompanhamento pós-cirúrgico dos pacientes, a nível do internamento.

No serviço de internamento foram realizadas as tarefas de monitorização dos animais hospitalizados (temperatura, frequência cardíaca e respiratória, pressão arterial, glicémia), preparação e administração da medicação (oral, intramuscular, endovenosa e subcutânea), alimentação, cuidados de higiene e bem-estar e passeios. Foram ainda realizadas outras tarefas, tais como colocação de cateteres endovenosos, colheita de sangue para análise, algaliação em canídeos e felídeos machos, realização de pensos, realização de electrocardiograma (ECG) e auxílio na preparação das altas. Também foi realizada discussão dos casos internados com o médico veterinário.

No turno nocturno coube ao estagiário auxiliar nos casos de emergência médica e cirúrgica e assegurar, juntamente com o médico veterinário e o enfermeiro de serviço, as tarefas do internamento dos animais hospitalizados.

No serviço de laboratório e análises internas foi permitido executar e interpretar exames como hemograma, bioquímicas sanguíneas, esfregaços sanguíneos, pesquisa de hemoparasitas, provas de coagulação, tipificação do grupo sanguíneo, citologias (conjuntivais, de pele, de PAAF, de líquido cefalorraquidiano), testes rápidos de diagnóstico, exame coprológico, urianálise, urocultura e teste de sensibilidade a antibióticos (TSA), e ainda realizar a preparação e envio de amostras para análise laboratorial.

Foi ainda possível assistir a várias sessões de formação interna realizadas por médicos veterinários residentes e sessões de formação sobre novos produtos veterinários.

II. ETIOLOGIA DAS CONJUNTIVITES FELINAS E ABORDAGEM AO SEU DIAGNÓSTICO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Introdução

A conjuntivite é provavelmente a doença ocular mais comum no gato doméstico. No entanto, a sua causa exacta pode ser difícil de determinar, particularmente na fase crónica da doença (Stiles, 2013). Existem diferentes etiologias de conjuntivite no gato (Hartmann, Hawley, Werckenthin, Lappin & Hartmann, 2010). A maioria dos casos de conjuntivite felina é de origem infecciosa (Waters & Barnett, 2004; Hendrix, 2009; Hillström *et al.*, 2012; Maggs, 2012a). Os microrganismos mais comuns são o herpesvírus felino-1 (HV-1) e a *Chlamydomphila felis* (*C. felis*) (Gould, 2001; Rampazzo *et al.*, 2003; Glaze, 2008; Hendrix, 2009). Estes são agentes patogénicos primários da conjuntiva (Maggs, 2010b), sendo responsáveis pela grande maioria das conjuntivites no gato (Maggs, 2008b). O *Mycoplasma* spp. é relatado como causa de conjuntivite felina (Maggs, 2008b; Stiles, 2012). No entanto, este microrganismo também é isolado em gatos saudáveis (Hendrix, 2009). O calicivírus felino (CVF) também tem sido descrito como agente etiológico de conjuntivite (Stiles, 2012), embora seja uma causa pouco frequente e um agente patogénico conjuntival de menor importância (Ramsey, 2000; Crispin, 2002a; Maggs, 2005). A conjuntivite bacteriana primária é rara no gato (Waters & Barnett, 2004). Causas de conjuntivite não-infecciosa incluem conjuntivite (queratoconjuntivite) eosinofílica, queratoconjuntivite seca, conjuntivite lipogranulomatosa e conjuntivite alérgica (Glaze, 2008). Alterações anatómicas, trauma, corpos estranhos ou neoplasias, entre outras causas, também podem dar origem a conjuntivite (Hartmann *et al.*, 2010; Hillström *et al.*, 2012). Posteriormente serão descritas as causas mais comuns e bem documentadas de conjuntivite no gato.

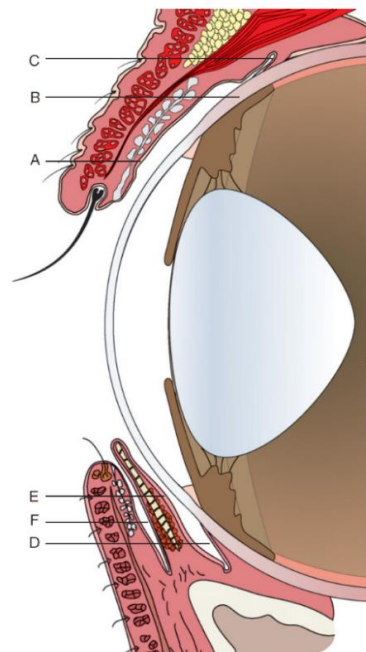
Um diagnóstico etiológico é fundamental para a instituição precoce e adequada do tratamento e, no caso das conjuntivites de natureza infecciosa, para a implementação de medidas de profilaxia e prevenção da transmissão da infecção (Waters & Barnett, 2004; Hillström *et al.*, 2012). Frequentemente não é possível determinar a etiologia apenas com base nos sinais clínicos (Crispin, 2002a; Maggs, 2008b; Hillström *et al.*, 2012), pois os sinais clínicos de conjuntivite são frequentemente semelhantes nas diversas etiologias (Waters & Barnett, 2004). O PCR é geralmente o método de diagnóstico de eleição para determinar a etiologia da conjuntivite no gato (Hillström *et al.*, 2012).

1.2. Anatomofisiologia da Conjuntiva

A conjuntiva, uma membrana mucosa móvel e elástica (Maggs, 2008b), desempenha um papel importante na dinâmica lacrimal, na protecção imunológica do globo ocular, na mobilidade ocular e na cicatrização da córnea (Hendrix, 2013). A conjuntiva reveste a superfície interna das pálpebras (conjuntiva palpebral), começando na margem palpebral e estende-se em profundidade até à órbita para dar origem ao fórnix ou saco conjuntival no qual inverte o sentido, estendendo-se depois sobre a porção anterior do globo ocular até ao limbo esclerocorneano (conjuntiva bulbar). A conjuntiva também reveste as superfícies palpebral e bulbar da membrana nictitante (conjuntiva nictitante). A conjuntiva palpebral é contínua com a epiderme da pálpebra, tal como a conjuntiva bulbar é contínua com o epitélio da córnea (Hendrix, 2013).

Histologicamente, a conjuntiva é composta por epitélio não-queratinizado com células caliciformes e substância própria subjacente. O epitélio da conjuntiva está coberto pela película lacrimal précorneal, uma camada protectora e nutritiva essencial para a conjuntiva. As células caliciformes são responsáveis pela produção da camada de mucina da película lacrimal précorneal (Maggs, 2008b). A substância própria está dividida em camada superficial e profunda. A camada superficial contém numerosos linfócitos que, quando estimulados por antigénios, formam folículos activos (Maggs, 2008b). A camada profunda é fibrosa e contém os vasos conjuntivais e nervos. A conjuntiva tem um fornecimento sanguíneo extenso (Hendrix, 2013). Os vasos conjuntivais superficiais (finos, tortuosos, móveis, muito ramificados) recobrem os vasos episclerais mais profundos (de maior diâmetro, rectos, imóveis) (Maggs, 2008b).

Figura 1. Anatomia da conjuntiva: conjuntiva palpebral (A), conjuntiva bulbar (B), fórnix dorsal (C), fórnix ventral (D), superfície bulbar ou posterior da membrana nictitante (E) e superfície palpebral ou anterior da membrana nictitante (F) (Adaptado de Gelatt & Brooks, 2011).



1.3. Conjuntivite

A conjuntiva responde a uma agressão através de um número limitado de mecanismos (Hendrix, 2013). A inflamação da conjuntiva caracteriza-se tipicamente por quemose (edema conjuntival), hiperémia conjuntival e corrimento ocular (Maggs, 2008b).

Existem vários critérios de classificação da conjuntivite tais como a sua duração, natureza do corrimento ocular, aparência e etiologia (Tabela 1). Destes, a classificação etiológica é a mais importante e, sempre que possível, deve realizar-se um diagnóstico etiológico como base para uma terapêutica racional (Maggs, 2008b).

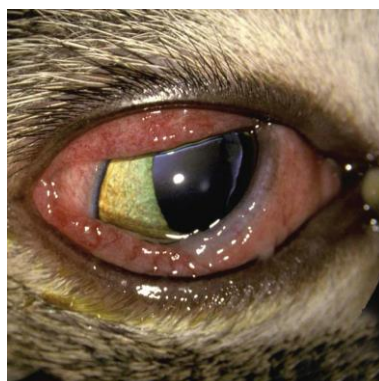
Tabela 1. Critérios de classificação da conjuntivite (Adaptado de Maggs, 2013a).

Etiologia	Duração	Aparência
Bacteriana	Aguda	Mucoso
Viral	Sub-aguda	Purulenta
Fúngica	Crónica	Mucopurulenta
Parasitária	Recidivante	Hemorrágica
Imunomediada		Folicular
Tóxica ou química		Membranosa
Dissecação (anomalias da película lacrimal, lagoftalmia, ectrópion)		Pseudomembranosa
Alérgica		
Friccional:		
Endógena (distiquíase, entrópion, triquíase)		
Exógena (corpo estranho, poeira ou partículas)		

1.3.1. Sinais clínicos de conjuntivite

A conjuntivite aguda é caracterizada por quemose, hiperémia conjuntival, corrimento ocular e blefarospasmo (Figura 2) (Hendrix, 2013).

Figura 2. Gato com conjuntivite. Notar a presença de hiperémia conjuntival, quemose e corrimento ocular (adaptado de Ketring & Glaze, 2012; utilizada com permissão).



A ténue ligação da conjuntiva aos tecidos subjacentes permite que o edema se desenvolva rapidamente (Hendrix, 2013). A quemose pode ser causada por qualquer estímulo que resulte em inflamação aguda (Maggs, 2008b). O vasto fornecimento sanguíneo, bem como de tecido linfóide, permite o desenvolvimento agudo de hiperémia e duma resposta inflamatória celular (Hendrix, 2013). A hiperémia ocorre geralmente como resultado da libertação de mediadores inflamatórios. Ocasionalmente pode ocorrer devido à diminuição ou obstrução da drenagem venosa (Maggs, 2008b). O corrimento ocular deve-se à estase vascular, exsudação celular e à saída de fluido dos vasos sanguíneos envolvidos (Petersen-Jones & Stanley, 2009). De acordo com o seu principal componente, o corrimento ocular pode ser caracterizado como seroso (“epífora”), mucoso, purulento, sanguíneo, ou uma combinação destes como, por exemplo, mucopurulento (Maggs, 2008a; Petersen-Jones & Stanley, 2009). A epífora, ou aumento do lacrimejo, pode resultar de drenagem nasolacrimal inadequada, do aumento de produção lacrimal em resposta a irritação ocular, ou uma combinação de ambos (Petersen-Jones & Stanley, 2009). A presença de epífora por si só raramente é sinal de doença primária da conjuntiva, a não ser que seja acompanhada por outros sinais, tais como aumento da produção de muco, formação de folículos, hiperémia ou blefarospasmo (Maggs, 2008b). Embora o muco seja um componente habitual da película lacrimal précorneal, qualquer irritação da superfície ocular pode desencadear o aumento da sua produção (Petersen-Jones & Stanley, 2009). A exsudação de células inflamatórias pode resultar no aparecimento de corrimento ocular purulento (Martin, 2010b). Um corrimento mucopurulento também está frequentemente associado a uma infecção bacteriana (Petersen-Jones & Stanley, 2009; Martin, 2010b). O corrimento sanguinolento é encontrado na conjuntivite ulcerativa ou traumática (Maggs, 2008b). O desconforto, dor ocular e prurido manifestam-se habitualmente através de blefarospasmo e escoriações perioculares (Ledbetter, 2013). Outros sinais clínicos que podem estar presentes incluem, por exemplo, ulceração e hemorragias conjuntivais, que podem ocorrer em conjuntivites graves (Petersen-Jones & Stanley, 2009).

À medida que a conjuntivite se torna crónica, as células caliciformes aumentam em quantidade e há proliferação do epitélio (hipertrofia papilar). Os folículos linfóides representam uma reacção inespecífica a uma estimulação antigénica crónica. Também se podem formar membranas inflamatórias. As membranas verdadeiras consistem em fibrina e detritos celulares e estão aderentes ao epitélio subjacente, enquanto as pseudomembranas são constituídas por material semelhante, mas não estão aderentes e são facilmente removidas (Maggs, 2008b).

1.3.2. Diagnóstico

Todos os animais devem realizar um exame físico e oftalmológico completo. A causa da conjuntivite pode por vezes ser determinada unicamente com base na história e no exame

oftalmológico. Quando a causa não é evidente após o exame completo, a conjuntiva é facilmente acessível para colheita de amostras para realização de testes de diagnóstico laboratoriais (Hendrix, 2013).

1.3.2.1. Exame oftalmológico

É fundamental recolher a história oftálmica do animal no que se refere ao início e duração da afecção ocular, doenças oculares prévias, medicação actual, vacinação e meio ambiente onde vive (Gould, 2001; Delgado, 2010).

O exame oftalmológico compreende o exame à distância e o exame ocular. O exame ocular sistemático deve incluir a avaliação dos reflexos oculares, teste de Schirmer, colheita de amostras microbiológicas (para bacteriologia, virologia e micologia) ou citológicas se indicado, tonometria após aplicação de um colírio anestésico tópico e biomicroscopia, oftalmoscopia directa e/ ou indirecta após aplicação de um colírio midriático e realização do teste de fluoresceína e teste de Rosa Bengala, se indicados (Delgado, 2010).

1.3.2.1.1. Teste de Schirmer

É um método semiquantitativo de medição da produção da porção aquosa da película lacrimal précorneal (Maggs, 2008a). Coloca-se uma tira de papel absorvente estéril e graduada na pálpebra inferior durante 60 segundos e mede-se imediatamente após a remoção da tira do olho (Delgado, 2010). Os valores no gato podem variar entre 12 a 23 mm/minuto (min.) ($17 \pm 5,7$ mm/min.) (Veith *et al.*, 1970 citado por Andrew, 2001). Este teste deve ser realizado no início do exame oftalmológico, previamente à aplicação de quaisquer colírios ou manipulação excessiva do olho (Petersen-Jones & Stanley, 2009). Os colírios tópicos aumentam os valores do teste de Schirmer, embora apenas temporariamente. Adicionalmente, algumas soluções tópicas exercem um efeito inibitório da produção lacrimal diminuindo os resultados como, por exemplo, os anestésicos tópicos ou os fármacos parassimpaticolíticos utilizados para induzir midríase. Os procedimentos que requerem manipulação de um olho inflamado, tais como raspagens da conjuntiva ou córnea, podem originar valores aumentados no teste de Schirmer (Maggs, 2008a).

1.3.2.1.2. Exame da conjuntiva

Com recurso a uma fonte de luz focal e um meio de aumento (ex. lupa, biomicroscópio), as várias superfícies da conjuntiva devem ser examinadas para avaliar alterações na coloração (ex. hiperémia, anemia), quemose, irregularidades da superfície, espessamentos ou massas, tipo de corrimento ocular, hemorragia subconjuntival ou enfisema, factores mecânicos e envolvimento de outras estruturas oculares ou anexas (córnea, pálpebras) (Maggs, 2008a; Martin, 2010b). A biomicroscopia permite a visualização e a localização

precisa de lesões ao nível dos órgãos acessórios, córnea, câmara anterior e lente (Rosolen, Multari, Woods & Jongh, 2009).

1.3.2.1.3. Corantes oculares

A fluoresceína é um corante hidrossolúvel e, por isso, não penetra o epitélio corneano intacto hidrofóbico. A ulceração da córnea expõe o estroma hidrofílico, permitindo a penetração e retenção do corante, que o cora de verde (Delgado, 2010). A utilização deste corante está indicada em animais com inflamação e dor ocular para detectar úlceras da córnea (Maggs, 2008a). Também pode ser utilizado para detectar lesões no epitélio da conjuntiva (Featherstone & Heinrich, 2013).

Inicialmente pensava-se que o corante Rosa Bengala apenas corava células epiteliais mortas ou degeneradas e muco (Featherstone & Heinrich, 2013). Actualmente pensa-se que o corante identifica áreas da superfície ocular com deficiência da película lacrimal précorneal (Feenstra & Tseng, 1992; Martin, 2010a). É útil no diagnóstico de deficiências da película lacrimal e de erosões superficiais da córnea ou úlceras iniciais que podem não corar com a fluoresceína (ex. queratite herpética) (Maggs, 2008a; Featherstone & Heinrich, 2013). É epiteliotóxico e pode causar irritação ocular (Hartley, 2010a).

1.3.2.2. Diagnóstico laboratorial

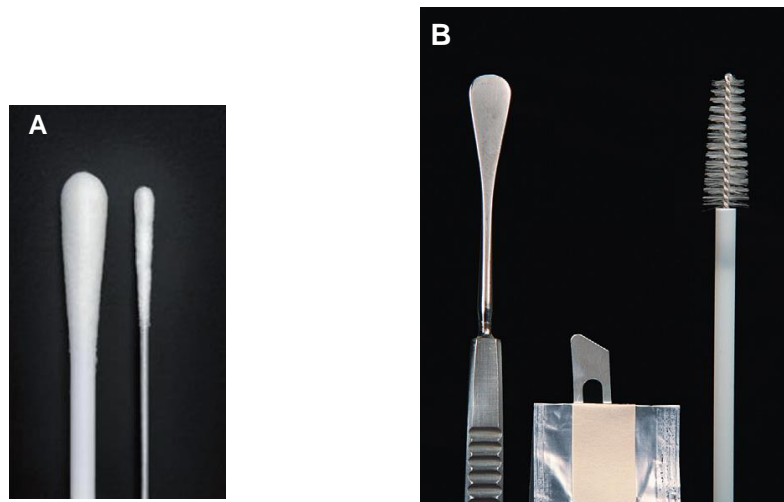
Pode englobar o exame citológico e o diagnóstico microbiológico (Maggs, 2002b). Existem dois tipos de testes microbiológicos: testes de detecção de antigénio e testes de detecção de anticorpo (Maggs, 2002b; Lappin, 2010). As amostras da superfície ocular, tipicamente obtidas por esfregaço ou raspagem, podem ser avaliadas para detecção de microrganismos por citologia, testes de imunofluorescência (IFA), cultura ou PCR (*polymerase chain reaction*) (Maggs, 2008a). A serologia, para detecção de anticorpos contra o microrganismo, é geralmente realizada em amostras de soro (Maggs, 2002b).

1.3.2.2.1. Colheita de amostras

Os instrumentos utilizados para colheita de amostras de conjuntiva incluem a zaragatoa, a espátula de platina Kimura, a extremidade romba de uma lâmina de bisturi e a escova de citologia (Figura 3) (Maggs, 2002a).

A zaragatoa é o instrumento menos traumático (Featherstone & Heinrich, 2013). A integridade celular é bem preservada com esta técnica, mas a quantidade de células é geralmente insuficiente para uma avaliação citológica completa (Maggs, 2002b). Assim, para o exame citológico pode realizar-se a colheita da conjuntiva palpebral com a espátula de Kimura, a extremidade romba de uma lâmina de bisturi ou a escova de citologia, para obtenção de amostras mais celulares. (Maggs, 2002b; Featherstone & Heinrich, 2013).

Figura 3. Instrumentos utilizados para colheita de amostras citológicas e microbiológicas a partir de tecidos da superfície ocular: (A) zaragatoa; (B) espátula de Kimura, extremidade romba de lâmina de bisturi; escova de citologia (Adaptado de Maggs, 2008a; Featherstone & Heinrich, 2013).



As amostras microbiológicas devem ser colhidas no início do exame oftalmológico, idealmente antes da instilação de anestésicos tópicos e de corantes oculares, pois os resultados de alguns dos testes microbiológicos, particularmente a cultura, podem ser alterados (Maggs, 2008a). Muitas destas preparações oftálmicas e os conservantes que possuem inibem o crescimento microbiano (Storey, Gerding, Scherba & Schaeffer, 2002; Featherstone & Heinrich, 2013). No entanto, a utilização dos anestésicos tópicos pode ser necessária para a colheita de amostras, particularmente em animais com dor ocular e não colaborantes (Hamor, 2001; Maggs, 2008a; Featherstone & Heinrich, 2013). Em contraste com a fluoresceína, que permite o crescimento bacteriano e a viabilidade dos vírus, o corante Rosa Bengala é bactericida e viricida (Featherstone & Heinrich, 2013). Tradicionalmente, as amostras microbiológicas são colhidas com uma zaragatoa estéril, humedecida com soro fisiológico (Maggs, 2008a). As bactérias, clamídias, micoplasmas, fungos e vírus possuem diferentes requisitos de cultura (Maggs, 2002b). Quando necessário, as amostras devem ser colocadas nos meios de transporte adequados para os microrganismos que estão a ser pesquisados e enviadas de forma adequada e logo que possível para o laboratório (Maggs, 2008a). As amostras devem ser refrigeradas até envio para o laboratório (Featherstone & Heinrich, 2013).

1.3.2.2.2. Citologia

A citologia conjuntival é um método rápido e simples para a caracterização e, em alguns casos, para o diagnóstico de doenças que envolvam a conjuntiva. Pode ser utilizada isoladamente ou em combinação com a cultura para guiar a terapêutica inicial. A citologia permite a identificação de microrganismos (ex. bactérias) e fornece informações como as

características morfológicas (ex. bastonetes/ cocos), de coloração (gram-positivas ou gram-negativas), número e localização (intracelular/ extracelular) (Featherstone & Heinrich, 2013). Os corantes tipo Romanowsky (ex. Diff-Quick, Wright-Giemsa) são utilizados para a detecção de bactérias, hifas fúngicas e corpos de inclusão (de *C. felis*, de *Mycoplasma* spp. ou virais), células inflamatórias e neoplásicas (Featherstone & Heinrich, 2013). O corante Gram permite a caracterização do tipo de bactérias identificadas (Maggs, 2008b; Young, 2013). A visualização directa do agente patogénico pode sugerir a presença duma infecção activa (Foley, 2010). O exame citológico de uma conjuntiva saudável revela células de epitélio colunar e escamoso e células caliciformes (Featherstone & Heinrich, 2013). As células queratinizadas são pouco comuns (Hendrix, 2013). Podem ocasionalmente estar presentes bactérias mas os linfócitos, neutrófilos, monócitos e células plasmáticas encontram-se raramente. Os mastócitos e os eosinófilos estão normalmente ausentes (Featherstone & Heinrich, 2013). O exame citológico raramente conduz a um diagnóstico específico (Slatter, 2001). No entanto, os neutrófilos são tipicamente observados na conjuntivite aguda, particularmente na conjuntivite de origem viral ou bacteriana. Os linfócitos e células plasmáticas são mais típicos de uma conjuntivite crónica e, muitas vezes, imunomediada. Os eosinófilos são encontrados na conjuntivite alérgica ou imunomediada, especialmente no gato (queratoconjuntivite eosinofílica) (Maggs, 2008b).

As lâminas também podem ser enviadas para testes de imunofluorescência (IFA). Esta técnica detecta antígeno, através da utilização de anticorpos marcados com um corante fluorescente, direccionados contra epitopos do microrganismo que são expressos na superfície da célula do hospedeiro. A utilização prévia de fluoresceína no olho pode levar a resultados falsos-positivos nos testes de IFA (Maggs, 2002b).

1.3.2.2.3. Cultura

A cultura não é habitualmente realizada, sendo geralmente realizada apenas após o insucesso da terapêutica antibiótica inicial. A cultura geralmente detecta um microrganismo presente na microbiota conjuntival. Existem muitas causas de conjuntivite que resultam no sobrecrecimento da microbiota e, portanto, a causa da conjuntivite normalmente não deve ser atribuída às bactérias isoladas (Maggs, 2008b). Outra desvantagem é a inerente demora nos resultados (Featherstone & Heinrich, 2013). Por norma, o tratamento deve ser instituído antes dos resultados estarem disponíveis (Champagne, 2001).

No gato, a utilização da cultura é mais frequente para o isolamento de *C. felis*, *Mycoplasma* spp., HVF-1 ou CVF (Maggs, 2002b; Petersen-Jones & Stanley, 2009). A cultura documenta uma infecção activa na data da colheita da amostra. É frequentemente pouco sensível, mas muito específica (Foley, 2010). Com o aumento da disponibilidade de testes de PCR, a utilização da cultura para fins de diagnóstico clínico de rotina tem vindo a decrescer, por ser uma técnica morosa, tecnicamente exigente e dispendiosa (Sykes & Rankin, 2013a).

1.3.2.2.4. PCR

O PCR amplifica pequenas quantidades de DNA (ácido desoxirribonucleico) para níveis detectáveis (Lappin, 2010). Três modificações comuns da técnica original incluem o PCR *nested*, *reverse transcriptase* (RT)-PCR e PCR *real-time* (Gould & Papasouliotis, 2013). O RT-PCR é um método de detecção de RNA (ácido ribonucleico) (Gould & Papasouliotis, 2013). Para isso, é utilizado o passo da transcriptase reversa para conversão das sequências de RNA para DNA (Lappin, 2010). O PCR *real-time* é um método quantitativo, que permite determinar a quantidade de DNA presente numa amostra (Gould & Papasouliotis, 2013). Os resultados são geralmente mais rápidos do que os da cultura (Lappin, 2010).

Ao contrário da cultura, o PCR não requer a presença de microrganismos viáveis (Maggs, 2002b). Assim, um resultado positivo não representa necessariamente a presença de uma infecção activa (Veir & Lappin, 2010). Quando comparado com outros métodos de detecção, foi demonstrado que o PCR possui uma maior sensibilidade e especificidade para a detecção de HVF-1, *C. felis* e *M. felis* e CVF. Por conseguinte, é geralmente o método de diagnóstico de eleição para estes agentes (Hillström *et al.*, 2012). A sensibilidade e especificidade do PCR dependem de vários factores, tais como os *primers* utilizados, as condições de termociclagem e a técnica escolhida (convencional, *nested* ou PCR *real-time*) (Sjödahl-Essén *et al.*, 2008).

Devido à sensibilidade desta técnica, podem ocorrer resultados falsos-positivos se houver contaminação da amostra durante a colheita ou no laboratório. Resultados falsos-negativos podem ocorrer se não forem garantidas as condições apropriadas durante a colheita ou transporte da amostra. As infecções agudas geralmente possuem maior quantidade de DNA (ou RNA) nas amostras, pois nas infecções crónicas a resposta imunitária já atenuou o microrganismo. Além disso, a padronização entre os laboratórios que oferecem técnicas de PCR é reduzida e, deste modo, os resultados podem variar entre laboratórios (Lappin, 2010).

1.3.2.2.5. Serologia

Não é rotineiramente utilizada para diagnóstico dos agentes patogénicos da superfície ocular (Rampazzo *et al.*, 2003). A serologia dá evidência de que houve exposição ao microrganismo, mas não está automaticamente correlacionada com doença clínica (Maggs, 2002b). O valor diagnóstico de alguns testes serológicos é limitado, pois estes não fazem a distinção entre a vacinação, infecção activa ou exposição (Gould & Papasouliotis, 2013).

1.3.3. Diagnóstico diferencial

A observação e interpretação precisa dos sinais conjuntivais são fundamentais no diagnóstico diferencial de “olho vermelho” (Maggs, 2008b), que pode resultar de hiperémia

conjuntival ou de congestão episcleral (Hendrix, 2013). A distinção entre hiperémia episcleral e hiperémia conjuntival é muito importante, pois permite a diferenciação entre doenças mais profundas e intra-oculares, tais como glaucoma e uveíte, de doenças mais superficiais da superfície ocular, tais como conjuntivite e queratite superficial. A congestão episcleral e conjuntival podem coexistir (Maggs, 2008b).

A conjuntivite pode ser primária ou secundária, como manifestação de doenças intra- ou extra-oculares ou sistêmicas (Ledbetter, 2013). Frequentemente, os sinais clínicos de conjuntivite não permitem fazer esta diferenciação ou o diagnóstico etiológico (Maggs, 2008b). A proximidade anatômica, o fornecimento sanguíneo comum e o extenso tecido linfóide e vascular podem levar a que a conjuntiva seja secundariamente afectada por outras doenças oculares e perioculares tais como queratite primária, doença orbitária, blefarite, queratoconjuntivite seca, dacriocistite, uveíte e glaucoma (Maggs, 2008b; Ledbetter, 2013). Agentes irritantes ou que causam fricção no olho também podem estar na origem de conjuntivite (Maggs, 2008b). Doenças sistêmicas podem manifestar-se inicialmente através de conjuntivite (Ledbetter, 2013). Por conseguinte, a conjuntivite deve ser considerada como um sinal clínico potencial de diversas doenças oculares ou sistêmicas (Maggs, 2008b).

1.4. Conjuntivites Infecciosas

1.4.1. Herpesvírus felino-1

1.4.1.1. Etiologia

O HVF-1 pertence à ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e género *Varicellovirus* (Davison *et al.*, 2009). Os herpesvírus possuem um genoma de DNA de cadeia dupla e é revestido por um invólucro lipídico com glicoproteínas. É portanto frágil fora do hospedeiro, sobrevivendo até 18 horas em ambiente húmido e menos em ambiente seco, e é instável na forma de aerossol. O HVF-1 é susceptível aos desinfetantes comuns (Gaskell, Dawson & Radford, 2012). Sobrevive até 1 hora em soluções oftalmológicas utilizadas rotineiramente no exame oftalmológico, tais como a fluoresceína e anestésicos tópicos (proparacaína), porém permanece viável até 5 dias em colírios de limpeza (Storey *et al.*, 2002).

Os alfa herpesvírus caracterizam-se por um ciclo de replicação curto, rápida propagação célula-a-célula, induzem lise celular, estabelecem infecção latente em gânglios, na maioria dos casos, são espécie-específicos (Gould, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011b). Como tal, o HVF-1 é restrito aos *Felidae*, sendo o gato doméstico o principal hospedeiro (Gaskell, Radford & Dawson, 2004). Apenas está descrito um serotipo do vírus (Gaskell *et al.*, 2012). As estirpes são geneticamente semelhantes, embora exista alguma variabilidade na virulência induzida (Sykes, 2013b).

1.4.1.2. Epidemiologia

O HVF-1 é um vírus ubiquitário e extremamente bem conservado na população felina (Maggs, 2008b). Estudos serológicos estimam que cerca de 97% dos gatos foram expostos ao vírus, quer através da vacinação ou da transmissão entre gatos (Maggs *et al.*, 1999b; Maggs, 2008b). A prevalência é geralmente mais elevada em colónias de gatos e em animais mais jovens (Gaskell *et al.*, 2012).

O HVF-1 é excretado nas secreções oculares, nasais e orais. A transmissão do vírus a gatos susceptíveis dá-se maioritariamente via contacto directo com um gato infectado, que se encontre em fase de excreção viral activa (Gaskell *et al.*, 2012). Os gatos com infecção aguda e os gatos com infecção viral latente (estado de portador) que experienciam um episódio de reactivação viral constituem as principais fontes de infecção (*European Advisory Board on Cat Diseases* [ABCD], 2012b; Gaskell *et al.*, 2012). Os primeiros excretam uma maior quantidade de partículas virais nas suas secreções do que os últimos (Stiles, 2003; Hartley, 2010a). A transmissão também pode ocorrer através de fómites ou de macrogotículas, que podem ser dispersadas pelo espirro a distâncias de 1 a 2 metros (Maggs, 2005; Gaskell *et al.*, 2012). No entanto, os aerossóis não são considerados uma fonte importante de transmissão (Gaskell *et al.*, 2012). O meio ambiente não constitui normalmente uma fonte de infecção a longo prazo (Gaskell *et al.*, 2012). Não existe evidência de que ocorra transmissão uterina e não se conhecem reservatórios não-felídeos ou hospedeiros alternativos (Gaskell, Dawson, Radford & Thiry, 2007).

Após a exposição ao HVF-1, estima-se que pelo menos 80% dos gatos se tornem portadores de infecção latente para o resto da vida. Destes, cerca de 45% assume importância epidemiológica, devido à subsequente reactivação e excreção viral. Os episódios de reactivação viral podem ocorrer espontaneamente, após situações de *stress* ou após administração de corticosteróides (tópicos oculares ou sistémicos) (Maggs, 2008b; Gould, 2011). Factores de *stress* incluem, por exemplo, doenças concomitantes, realojamento, cirurgia, parto e lactação (Stiles, 2003). A reactivação viral pode também estar associada à imunossupressão sistémica provocada pela infecção por FeLV (vírus da leucemia felina) ou por FIV (vírus da imunodeficiência felina) (Andrew, 2001). A excreção viral, que não ocorre imediatamente após o episódio de *stress*, começa cerca de uma semana depois. Segue-se uma fase refractária de vários meses em que novo episódio de reactivação viral é menos provável (Gaskell *et al.*, 2012).

1.4.1.3. Patogénese

A infecção primária (primeira exposição) ocorre mais frequentemente em gatinhos e jovens adultos, após o declínio dos anticorpos maternos. Os gatos vacinados continuam com algum risco de infecção, pois as vacinas apenas induzem imunidade parcial (Gould, 2011). O HVF-1 possui um tropismo elevado para o epitélio da conjuntiva, nasal e faringe (Gaskell *et al.*,

1979 citado por Hartley, 2010a) e em menor grau para o epitélio da córnea (Nasisse *et al.*, 1989 citado por Stiles, 2013).

O HVF-1 produz doença por dois mecanismos distintos, que requerem abordagens terapêuticas diferentes (Maggs, 2005). O primeiro mecanismo é a infecção citolítica e resulta da replicação viral activa (citólise). A citólise pode ocorrer durante a infecção primária ou após a reactivação viral da infecção latente. O segundo mecanismo resulta de inflamação imunomediada (Maggs, 2005).

Após entrar através da mucosa conjuntival, nasal ou oral, há um período inicial de rápida replicação viral e citólise das células epiteliais nestes locais (Maggs, 2008b). A infecção resulta em erosão epitelial, necrose epitelial multifocal, com infiltração neutrofílica, exsudação fibrinosa e inflamação (Stiles, 2003; Gaskell *et al.*, 2012).

A conjuntivite é tipicamente a lesão inicial desta fase, devido à replicação preferencial do vírus no epitélio da conjuntiva. As úlceras dendríticas da córnea (erosões epiteliais lineares ou ramificadas) resultam dos efeitos citopáticos directos do vírus no epitélio da córnea (Andrew, 2008). A ulceração simultânea das superfícies conjuntival e corneana leva à exposição da substância própria da conjuntiva e do estroma da córnea, permitindo a formação de simbléfaro, isto é, adesões permanentes entre quaisquer das superfícies da conjuntiva ou entre a conjuntiva e a córnea (Maggs, 2005). Se a infecção viral ocorrer antes da abertura das pálpebras, pode ocorrer inflamação aguda da conjuntiva, com acumulação de corrimento mucopurulento no saco conjuntival e distensão palpebral (*ophthalmia neonatorum*) (Maggs, 2005; Stiles, 2012). A oftalmia neonatal pode ser causada pelo HVF-1 através da transmissão materna ou infecção após o nascimento (Stiles, 2013). Em casos graves pode causar lesões graves na córnea e perfuração do globo ocular (Crispin, 2002a; Gould, 2011).

Esta fase citolítica também causa rinite, através da erosão da mucosa nasal e exposição do osso subjacente e cartilagem (Maggs, 2005). A replicação viral pode causar osteólise nos turbinados nasais, que pode ser permanente (Gaskell *et al.*, 2012). A consequente deformação e remodelação destes tecidos após a doença aguda pode ser um factor predisponente para o desenvolvimento de rinosinusite crónica (Maggs, 2005).

A excreção viral ocorre 24 horas após a infecção e geralmente persiste durante 1 a 3 semanas (Gaskell *et al.*, 2012). Embora rara, a virémia e infecção sistémica podem verificar-se particularmente em animais debilitados ou neonatos (Gaskell *et al.*, 2012; Sykes, 2013b). O envolvimento pulmonar primário também pode ocorrer. A infecção bacteriana secundária pode agravar a patogenicidade do vírus, sendo possível o desenvolvimento de pneumonia bacteriana ou sinusite. A resolução clínica das lesões dá-se geralmente em 2 a 3 semanas (Gaskell *et al.*, 2012).

Durante a infecção primária os viriões do HVF-1 invadem as terminações nervosas sensoriais do nervo trigémeo e ascendem até ao gânglio trigémeo, onde estabelecem

latência (Gould, 2011). A latência representa uma fase quiescente da infecção viral, não-replicativa, durante a qual não existe doença clínica (Stiles, 2003). O vírus não é detectável durante esta fase (ABCD, 2012b). No entanto, durante esta fase ocorre transcrição de pequenas cadeias de RNA denominadas LATs (*Latency-associated transcripts*) (Townsend, Stiles, Guptill-Yoran & Krohne, 2004; Gould, 2011; Maes, 2012). A detecção de LATs é considerada a forma mais precisa para determinar se o vírus estabelece latência num tecido. Embora seja debatida a possibilidade de o HVF-1 estabelecer latência em outros tecidos, como a córnea (Gaskell *et al.*, 2007; Gould, 2011), apenas foram detectados LATs no gânglio trigémeo (Townsend *et al.*, 2004). A transcrição de proteínas virais mínima durante a latência permite a evasão da resposta humoral e da resposta mediada por células (Gould, 2011).

A reactivação viral pode ocorrer periodicamente, com replicação viral e migração do vírus ao longo dos nervos sensoriais até aos tecidos epiteliais periféricos (Maggs, 2005; Gould, 2011). Esta resulta na re-excreção do vírus, que pode ser assintomática (excreção subclínica) ou pode estar associada a sinais de doença clínica, que é designado por recrudescência (Gould, 2011; Maes, 2012). A doença recrudescente pode resultar de citólise ou do desenvolvimento de doença imunopatológica (Gould, 2011).

O principal exemplo de doença herpética imunopatológica é a queratite estromal, embora a conjuntivite crónica imunopatológica também ocorra (Maggs, 2008b). A queratite estromal consiste na infecção e inflamação do estroma corneano (Andrew, 2008). Durante períodos de ulceração epitelial prolongada, resultante dos efeitos citopáticos directos do vírus, a supressão da resposta imunitária local permite a entrada do vírus no estroma corneano (Crispin, 2002b; Maggs, 2005; Andrew, 2008). A queratite estromal resultante deve-se a uma resposta imunitária dirigida contra antigénios virais persistentes na córnea, o que dá origem a uma lesão estromal que não resulta da replicação viral (Maggs, 2005; Andrew, 2008). Uma vez que a queratite estromal se desenvolve após uma ausência prolongada do epitélio corneano, esta não parece ser uma manifestação de infecção primária (Andrew, 2008). Evidências recentes sugerem que um mecanismo imunomediado semelhante pode estar envolvido na rinosinusite crónica (Johnson, Foley, De Cock, Clarke & Maggs, 2005; Hartley, 2010a).

Convém salientar que apenas uma minoria dos gatos infectados sofrem episódios de doença crónica ou recidivante ao longo da vida, presumivelmente devido ao desenvolvimento de respostas imunitárias invulgarmente exuberantes ou suprimidas contra o vírus (Maggs, 2005).

1.4.1.4. Sinais clínicos

Os sinais clínicos surgem geralmente após um período de incubação de 2 a 6 dias. A infecção primária é caracterizada por depressão, inapetência, febre, espirros, rinite,

corrimento nasal seroso, conjuntivite e corrimento ocular seroso (Gaskell *et al.*, 2012; Stiles, 2013). A inflamação neutrofílica é acentuada e origina um corrimento ocular e nasal purulentos (Stiles, 2013). A conjuntivite é geralmente bilateral, com hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular seroso a mucopurulento e blefarospasmo (Gould, 2011; Stiles, 2012). Em casos graves pode haver áreas de ulceração conjuntival (Stiles, 2013).

A queratite ulcerativa provocada pelo HVF-1 é muito frequente (Stiles, 2012). Hartley (2010a) sugere que, até prova em contrário, a etiologia de uma úlcera da córnea felina deve ser atribuída ao HVF-1 (Stiles, 2012). As úlceras dendríticas são consideradas patognomónicas da infecção por HVF-1. Estas progridem rapidamente para úlceras geográficas (Hartley, 2010a; Gould, 2011), (Gould, 2011). As úlceras estão geralmente limitadas ao epitélio corneano, excepto quando a infecção bacteriana secundária causa progressão da úlcera e ocorre envolvimento do estroma corneano (Stiles, 2013), podendo até originar um descemetocélio ou perfuração da córnea (Hartley, 2010a). As úlceras dendríticas são lesões subtis (Crispin, 2002b; Gould, 2011) e a sua identificação requer a utilização dos corantes oculares e observação com um meio de aumento (Hartley, 2010a; Gould, 2011). Nesta fase inicial existe necrose e descamação do epitélio da córnea e da conjuntiva, mas não há exposição do estroma subjacente, razão pela qual podem ser difíceis de detectar com a fluoresceína (Maggs, 2008a). Assim, o corante Rosa Bengala pode ser mais vantajoso (Maggs, 2005; Glaze, 2011). As úlceras geográficas são Rosa Bengala negativas e fluoresceína positivas (Ramsey, 2010a).

O risco de formação de simbléfaro é elevado nos casos graves (Stiles, 2012). O simbléfaro ocorre normalmente durante a infecção primária e é menos provável em gatos adultos com conjuntivite herpética recidivante (Stiles, 2013). As possíveis complicações oculares associadas ao simbléfaro incluem a oclusão dos pontos lacrimais, com consequente epífora crónica, a oclusão dos ductos da glândula lacrimal, com consequente QCS, alterações da mobilidade das pálpebras e da membrana nictitante e opacidade da córnea, que pode causar perda de visão (Crispin, 2002a; Hartley, 2010a; Glaze, 2011).

Em casos graves pode ocorrer dispneia e tosse. A ulceração oral é pouco comum. Ocasionalmente, podem ocorrer infecções generalizadas e pneumonia viral primária, particularmente em animais jovens e debilitados (Gaskell *et al.*, 2012). Os sinais neurológicos têm sido descritos como sequelas raras da infecção (Gaskell *et al.*, 2007). A infecção concomitante com o FIV e com o FeLV podem levar ao agravamento da doença (Gaskell *et al.*, 2012). A doença primária é geralmente auto-limitante, ocorrendo recuperação clínica em 10 a 20 dias (Maggs, 2008b), mas o curso clínico pode ser variável (Stiles, 2013). No gato adulto, a presença de sinais oculares está mais provavelmente associada a um episódio de reactivação viral da infecção latente (Stiles, 2003). A doença recrudescente caracteriza-se por sinais clínicos semelhantes aos da infecção primária, já referidos anteriormente, mas habitualmente menos graves (Gould, 2011). Pode afectar os mesmos

tecidos da doença primária (conjuntiva, córnea e tracto respiratório superior) e a queratite pode ser ulcerativa ou não ulcerativa. Pode ser unilateral e é tipicamente menos grave, embora frequentemente mais crónica e recidivante do que a infecção primária. Geralmente não está associada a sinais clínicos de doença generalizada e de doença do tracto respiratório superior (Maggs, 2008b). A cicatrização das úlceras da córnea é mais lenta do que na infecção primária, pois podem ter uma evolução crónica (Hartley, 2010a).

A queratite estromal é uma manifestação clínica pouco comum da infecção por HVF-1, mas que ameaça a visão de forma significativa (Andrew, 2008). É caracterizada por alterações inflamatórias crónicas, que incluem infiltração do estroma por células inflamatórias (particularmente linfócitos), edema corneano grave, neovascularização superficial ou profunda, pigmentação, fibrose e formação de cicatrizes (Maggs, 2005; Ramsey, 2010b; Gould, 2011). A ulceração epitelial pode estar presente ou ausente (Hartley, 2010a; Ramsey, 2010b).

1.4.1.5. Doenças associadas ao HVF-1

Para além da conjuntivite e queratite, o HVF-1 tem sido relacionado com uma variedade de outras manifestações oculares e perioculares, incluindo o sequestro de córnea, a queratoconjuntivite eosinofílica (ver 1.3.2.1.), a queratoconjuntivite seca (ver 1.3.2.2.), instabilidade da película lacrimal précorneal (ver 1.3.2.2.), uveíte anterior e dermatite periocular (Gould & Papasouliotis, 2013). O blefarospasmo constante, provocado por dor ocular, pode contribuir para o aparecimento de entrópion (Stiles, 2003).

1.4.1.6. Diagnóstico

O diagnóstico de HVF-1 como causa de conjuntivite pode por vezes ser problemático, sobretudo no gato adulto (Stiles, 2014). Devido à dificuldade de estabelecer um diagnóstico definitivo em muitos gatos, o diagnóstico presuntivo pode ser baseado nos sinais clínicos (Tabela 2), e resposta ao tratamento (Maggs, 2012a; Stiles, 2013). O diagnóstico confirmatório da infecção por HVF-1 requer a detecção laboratorial do vírus (Gaskell *et al.*, 2007; Stiles, 2014).

A detecção viral nos gatos com infecção primária é relativamente fácil, uma vez que o HVF-1 é excretado em grandes quantidades. Porém, nesta fase da infecção os sinais clínicos são geralmente característicos e auto-limitantes, o que torna o diagnóstico laboratorial definitivo menos necessário. Pelo contrário, a detecção viral é importante nos gatos com doença crónica ou recidivante, devido à ambiguidade da apresentação clínica, especialmente se o tratamento antiviral estiver a ser ponderado. No entanto, a reduzida quantidade de vírus presente nesta fase torna a detecção mais difícil (Maggs, 2008b).

Tabela 2. Características clínicas da queratoconjuntivite infecciosa felina (Adaptado de Maggs, 2008b).

Sinais clínicos	Herpesvírus felino-1	<i>Chlamydophila felis</i>	Calicivírus felino
Anorexia/ Letargia	+++	±	++
Espirros	+++	++	+
Corrimento nasal	+++	++	++
Ulceração oral	–	–	+++
Ptialismo	+	±	+++
Corrimento ocular	+++	++	+
Conjuntivite	+++	+++	–
	(hiperémica)	(quemótica)	
Queratite	+++	–	–

+, Ligeiro; ++, moderado; +++, grave; – ausente; ±, pouco comum.

1.4.1.6.1. Detecção de antígeno

Os métodos de detecção viral disponíveis incluem o isolamento viral, testes de imunofluorescência e o PCR (Maggs, 2008b). Para tal podem ser utilizadas zaragatoas conjuntivais, corneanas ou orofaríngeas (Stiles, 2003; Gould, 2011).

Actualmente, o PCR é o método de diagnóstico de eleição para o HVF-1, devido à sua elevada sensibilidade e especificidade (Stiles, 2014). De um modo geral, é mais sensível do que o isolamento viral e do que a IFA (Stiles, McDermott, Willis, Roberts & Greene, 1997; Burgess *et al.*, 1999), particularmente na fase crónica da infecção (Gaskell *et al.*, 2012). No entanto, a sensibilidade desta técnica é variável entre laboratórios (Maggs & Clarke, 2005). Maggs & Clarke (2005) compararam a sensibilidade de 6 técnicas de PCR de diferentes laboratórios e as taxas de detecção variaram entre 29% e 86%. No entanto, vários estudos também concluíram que, quando analisadas por PCR, as amostras da conjuntiva de gatos clinicamente saudáveis também podem ter resultados positivos (Stiles, 2013).

A interpretação de resultados de testes de diagnóstico de HVF-1 e o diagnóstico definitivo podem ser desafiantes. Como pode ocorrer reactivação e excreção viral intermitente tanto em gatos assintomáticos como em gatos com sinais clínicos, um resultado positivo por PCR (ou por outras técnicas) não significa necessariamente que o HVF-1 é a causa da doença, ou seja, pode resultar de reactivação não relacionada com o processo primário da doença (Maggs, 2005; Gaskell *et al.*, 2007). Contudo, num contexto epidemiológico, um resultado positivo indica que o gato foi infectado e, portanto, pode transmitir o vírus a outro animal (Gaskell *et al.*, 2012). Para além disso, um resultado negativo não exclui o HVF-1 como agente causal (Stiles, 2012). No entanto, um resultado positivo na presença de um quadro

clínico consistente com o HVF-1 deve permitir a realização do diagnóstico (Gaskell *et al.*, 2007; Stiles, 2014).

Alguns laboratórios disponibilizam comercialmente painéis de PCR para detecção simultânea de outros agentes patogénicos implicados na doença ocular, que podem incluir a pesquisa de HVF-1, CVF, *C. felis* e *Mycoplasma* spp. (Sykes, 2013b).

O isolamento viral é considerado o *gold standard* no diagnóstico do HVF-1 (Maggs, 2005). (Gaskell *et al.*, 2007). Quando existe infecção concomitante com o CVF, a presença do último pode obscurecer a presença do HVF-1, pois produz efeitos citopáticos mais rapidamente (Sykes, 2013b). Possui uma boa sensibilidade na infecção aguda, mas na infecção crónica a sensibilidade pode ser muito baixa (Andrew, 2001; ABCD, 2012b). No entanto, é menos sensível do que o PCR (Stiles *et al.*, 1997; Burgess *et al.*, 1999), é um teste moroso e existem dificuldades logísticas de transporte e processamento das amostras. Por estas razões, não é rotineiramente utilizado no diagnóstico do HVF-1 (Maggs, 2005; ABCD, 2012b; Sykes, 2013b).

A imunofluorescência pode ser utilizada para detecção do HVF-1 em amostras conjuntivais ou corneanas (Gaskell *et al.*, 2012). As principais limitações da IFA incluem a sua baixa sensibilidade, particularmente em infecções crónicas, a possível interferência da fluoresceína nos resultados e a natureza subjectiva da interpretação laboratorial (Maggs, 2005; ABCD, 2012b). Devido a estas limitações e à disponibilidade de técnicas de diagnóstico alternativas, a IFA possui um valor diagnóstico limitado (Maggs, 2005).

Em qualquer gato com conjuntivite, é aconselhável a realização de uma citologia de conjuntiva. Na conjuntivite por HVF-1, a citologia frequentemente revela células epiteliais e neutrófilos (Stiles, 2013). As inclusões virais não são habitualmente visualizadas (Hillström *et al.*, 2012; Stiles, 2014).

1.4.1.6.2. Detecção de anticorpo

Os anticorpos contra o HVF-1 podem ser detectados por ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) ou por seroneutralização (Lappin, Andrews, Simpson & Jensen, 2002). No entanto, a serologia não é considerada útil no diagnóstico de infecção por HVF-1. Devido à elevada exposição dos gatos ao vírus e à vacinação, os resultados são previsivelmente positivos na maioria dos animais (Maggs, 2008b) e, logo, não existe correlação entre um título de anticorpos positivo e a presença de infecção activa ou doença (Maggs *et al.*, 1999; ABCD, 2012b).

A serologia pode, contudo, ser utilizada para predizer o grau de protecção do animal contra o vírus (Lappin *et al.*, 2002; Maggs, 2005), embora gatos com títulos negativos possam ter algum grau de imunidade e gatos com títulos positivos possam ser susceptíveis ao vírus (Sykes, 2013b).

1.4.1.7. Tratamento

A abordagem terapêutica é variável, dependendo da fase da infecção e da gravidade da doença (Gould, 2011). Os pilares do tratamento incluem a terapêutica antiviral e o tratamento de suporte e a antibioterapia. As terapêuticas adjuvantes incluem a lisina e o interferão (IFN) (Maggs, 2008b; Gould, 2011).

Na infecção primária, a terapêutica de suporte constitui a base do tratamento na maioria dos gatos (Maggs, 2005). Os principais objectivos terapêuticos são a prevenção e tratamento das infecções bacterianas secundárias e a manutenção da nutrição e hidratação adequadas (Maggs, 2005; Maggs, 2008b). A antibioterapia tópica está indicada quando há ulceração da córnea para prevenir o subsequente envolvimento do estroma corneano (Maggs, 2005; Stiles, 2012) e a antibioterapia sistémica está indicada na presença de doença respiratória aguda (Gaskell *et al.*, 2007; Hartley, 2010b; ABCD, 2012b). Dado o frequente envolvimento concomitante da *C. felis* e do *Mycoplasma* spp., as tetraciclina tópica e sistémica são uma boa opção (Maggs, 2008b; Stiles, 2012). A limpeza da conjuntiva e pálpebras e narinas é importante (Stiles, 2003; Maggs, 2008b). Na ausência de ulceração da córnea, pode aplicar-se um agente lubrificante, que protege e hidrata a superfície ocular (Maggs, 2005; Maggs, 2008b).

Como a resolução cirúrgica do simbléfaro grave é difícil, deve fazer-se o desbridamento mecânico das adesões iniciais (Stiles, 2013). Este procedimento pode ser realizado sob anestesia tópica e com uma zaragatoa estéril (Stiles, 2003). O tratamento da *ophthalmia neonatorum* consiste na abertura prematura da fenda palpebral, após a qual é recomendada a irrigação frequente da superfície ocular (Gould, 2011). Nestes casos também está indicada a utilização de antibióticos tópicos e de lágrimas artificiais (Stiles, 2013).

Na doença primária e no gato adulto com conjuntivite e/ou queratite recrudescente, os agentes antivirais devem ser considerados quando os sinais oculares são graves, persistentes ou recidivantes, especialmente quando há envolvimento da córnea (com ou sem ulceração) (Maggs, 2008b; Gould, 2011).

Na doença recrudescente, o principal objectivo do tratamento é limitar a gravidade, frequência e duração dos episódios (Maggs, 2005). Os antibióticos tópicos ou sistémicos geralmente não estão indicados nesta fase.

Os antivirais utilizados em oftalmologia veterinária são análogos de nucleósidos. Possuem uma acção virostática, pois actuam na replicação viral. Exercem a sua acção através da inibição competitiva da DNA polimerase e interrupção da síntese do DNA viral (Gould, 2011; Hartley, 2010b; Clode, 2013). Os antivirais não foram desenvolvidos especificamente para o HVF-1 e, por conseguinte, para o gato (Maggs, 2010a).

Os antivirais tendem a ser mais tóxicos do que os agentes antibacterianos, o que limita a sua administração sistémica (Maggs, 2010a). Como exercem uma acção virostática requerem uma aplicação tópica frequente para serem eficazes. Deste modo, é

recomendável a aplicação pelo menos 4 a 6 vezes por dia, especialmente na fase inicial da doença (Maggs, 2005; Maggs, 2008b), durante 21 dias (Stiles, 2003; Gould, 2011). O tratamento tópico deve ser continuado durante pelo menos 1 semana após a resolução das lesões oculares (Maggs, 2005; Stiles, 2013). Os antivirais tópicos podem causar irritação ocular em alguns gatos (Stiles, 2013).

A eficácia *in vitro* de vários fármacos antivirais contra o HVF-1 foi avaliada e estes demonstraram ter uma potência variável: trifluridina (trifluorotimidina) >> idoxuridina ≈ ganciclovir > vidarabina ≈ cidofovir ≈ penciclovir >> aciclovir (Nasisse *et al.*, 1989 citado por Maggs, 2008b; Maggs & Clarke, 2004). Em Portugal, os produtos antivirais oftálmicos estão actualmente limitados ao ganciclovir e ao aciclovir e os antivirais sistémicos ao aciclovir e ao valaciclovir (um pro-fármaco do aciclovir) (Infarmed, 2014). Estudos *in vitro* indicam que o ganciclovir possui uma boa eficácia contra o HVF-1. O aciclovir é pouco eficaz *in vitro* contra o HVF-1, no entanto, parece ser eficaz no tratamento da queratoconjuntivite se a aplicação tópica for frequente (5 vezes por dia) (Gould, 2011; Maggs, 2010a). O aciclovir e o valaciclovir não devem ser utilizados no gato porque são potencialmente tóxicos quando administrados por via oral, estando associados a supressão da medula óssea (Hartley, 2010b; Maggs, 2010a; Gould, 2011).

Para além dos antibióticos e antivirais tópicos já referidos, o desbridamento do epitélio pouco aderente às margens da úlcera superficial com um cotonete, sob anestesia tópica pode ser útil (Maggs, 2008c; Hartley, 2010b; Maggs, 2013b). A queratotomia em grelha está contra-indicada no gato (Hartley, 2010b; Maggs, 2013b), pois pode predispor ao desenvolvimento de sequestro de córnea (LaCroix, van der Woerd & Olivero, 2001). O desbridamento de úlceras estromais não deve ser realizado (Hartley, 2010b).

A decisão de utilizar agentes anti-inflamatórios tópicos em gatos com doença ocular associada ao HVF-1 deve ser ponderada e criteriosa (Nasisse *et al.*, 1991 citado por Spiess, Sapienza & Mayordomo, 2009; Stiles, 2013). Estes fármacos podem ser úteis em alguns casos devido à inflamação que o vírus provoca, particularmente em gatos com conjuntivite crónica ou com queratite estromal, nos quais a terapêutica antiviral pode não ser suficiente (Stiles, 2003). Na queratite estromal, possivelmente resultante de um mecanismo imunomediado a terapêutica anti-inflamatória pode ser indicada, geralmente em conjunto com um antiviral (Maggs, 2005).

Os corticosteróides tópicos ou sistémicos estão geralmente contra-indicados em gatos infectados ou com suspeita de infecção por HVF-1 (Andrew, 2008; Maggs, 2008b; Glaze, 2011; Stiles, 2013). Os efeitos prejudiciais dos corticosteróides em gatos com infecção por HVF-1 são conhecidos e incluem imunossupressão local, inibição da epitelialização da córnea e aumento da actividade das proteases e das collagenases (Andrew, 2008; Hollingsworth, 2009). Podem, assim, agravar a doença ocular (Stiles, 2013), podendo causar úlceras da córnea mais profundas e persistentes, edema e vascularização da córnea

e formação de sequestro de córnea. Adicionalmente prolongam o período de excreção viral e induzem a reactivação viral (Maggs, 2005). Na tentativa de minimizar estes riscos, há autores que sugerem a utilização de corticosteróides tópicos em combinação com antivirais, mas não existe evidência da eficácia desta abordagem terapêutica (Gould, 2011). Stiles (2013) afirma que, mesmo em combinação com antivirais, os corticosteróides devem ser evitados.

A utilização de anti-inflamatórios não esteróides e de ciclosporina tópica, em combinação com a terapêutica antiviral, também tem sido defendida (Stiles, 2013). No entanto, na presença de ulceração ou de outro sinal de infecção lítica activa, os fármacos anti-inflamatórios de qualquer tipo não são recomendados, pois podem potenciar a persistência de antigénio e promover a sua entrada no estroma corneano (Maggs, 2005). Stiles (2013) afirma que, na sua abordagem clínica, inicialmente aplica a terapêutica antiviral sem o recurso a anti-inflamatórios e avalia a resposta ao tratamento dentro de 2 a 3 semanas. Na reavaliação, se a inflamação persistir e for marcada, adiciona um anti-inflamatório não esteróide (AINE) tópico, como diclofenac 0,1%, ou ciclosporina 0,2% tópica ao regime de tratamento antiviral (Stiles, 2013).

Estudos experimentais sobre os efeitos dos AINEs tópicos no tratamento da queratite estromal em espécies não-felinas têm produzido resultados contraditórios. Estes estudos descrevem melhoria clínica, com ou sem utilização de antivirais, aumento da gravidade da doença herpética, ou nem ocorre melhoria nem agravamento clínico (Glaze, 2011; Gould, 2011; Stiles, 2013).

Embora seja referida por alguns autores, a utilização de ciclosporina tópica em gatos infectados com HVF-1 também é controversa (Maggs, 2005; Andrew, 2008; Spiess *et al.*, 2009; Gould, 2011).

A sua eficácia no tratamento da queratite estromal felina ainda não foi avaliada (Hartley, 2010b), no entanto, a sua utilização mostrou ser eficaz na resolução clínica da queratite estromal causada pelo herpesvírus *simplex*-1 (HVS-1) em humanos (Rao, 2006; Heiligenhaus *et al.*, 1999 citado por Stiles, 2013).

Os interferões têm sido utilizados nos gatos com doença ocular associada ao HVF-1, mas os estudos clínicos que comprovam a sua eficácia são escassos (Stiles, 2013). Os interferões são citocinas espécie-específicas com propriedades antivirais, antiproliferativas e imunomoduladoras (Katze, He & Gale, 2002; Hartley, 2010b). Os IFNs de tipo I são produzidos por células infectadas por vírus e têm actividade antiviral não-específica em células adjacentes não-infectadas (Doménech *et al.*, 2011). Actualmente são utilizados dois IFNs na prática clínica: o interferão-alfa recombinante humano (rHuIFN- α) e o interferão-ómega recombinante felino (rFeIFN- ω) (Alcalá, Gómez, Duato & Corrales, 2006). O rHuIFN- α , não sendo espécie-específico, pode ter uma actividade *in vivo* menor nas células felinas. Além disso, a administração parentérica pode levar ao desenvolvimento de anticorpos

neutralizantes e consequente perda de eficácia após 3 a 7 semanas e pode provocar efeitos adversos (Doménech *et al.*, 2011).

Apesar de os IFNs desempenharem um papel fisiológico importante no controlo de infecções virais, os estudos realizados têm produzido resultados contraditórios (Maggs, 2012b). O rHuIFN- α e o rFeIFN- ω inibem a replicação *in vitro* do HVF-1 (Hartmann, 2012; Sykes & Papich, 2013b). Num estudo, o efeito antiviral *in vitro* do rFeIFN- ω foi superior ao do rHuIFN- α (Sieback *et al.*, 2006). Haid *et al.* (2007) investigaram os efeitos do tratamento tópico e oral com rFeIFN- ω previamente à infecção experimental com o HVF-1 e os resultados não demonstraram efeitos benéficos, quer clinicamente quer em termos da excreção viral. Slack *et al.* (2013) demonstrou que a administração tópica ocular de doses elevadas de rHuIFN- α e de rFeIFN- ω em gatos com queratoconjuntivite, resultante de infecção viral natural, não melhorou a doença clínica ou a excreção viral. São necessários mais estudos clínicos para avaliar a eficácia dos IFNs no tratamento da doença herpética (Gould, 2011; Sykes, 2013b).

Na prática clínica, os IFNs são comumente usados topicamente nos casos de queratoconjuntivite (Hartmann, 2012; Sykes & Papich, 2013b). A administração tópica é preferível à via sistémica pois é atingido um efeito antiviral directamente no local da aplicação. No entanto, é necessária a aplicação frequente (Hartmann, 2012). É recomendada a administração em combinação com fármacos antivirais (análogos de nucleósidos) (Sieback *et al.*, 2006; Hartmann, 2012). Em gatos com manifestações oculares de infecção por HVF-1 tem sido recomendado o uso tópico de IFN- α ou IFN- ω a cada (q) 4 a 6 horas até resolução clínica (Hartmann, 2012; Gaskell *et al.*, 2012; Stiles, 2012).

Sabe-se que a administração da lisina oral em humanos infectados com HVS-1 reduz a gravidade, a frequência e o tempo de recuperação (Griffith *et al.*, 1978 citado por Maggs, 2005). O aminoácido L-lisina reduz a replicação *in vitro* do HVF-1. O mecanismo antiviral é desconhecido, mas pensa-se que se deve ao antagonismo da arginina, um aminoácido essencial para a replicação viral (Maggs, Collins, Thorne & Nasisse, 2000; Hartley, 2010b; Maggs, 2010a; Clode, 2013). Os dados obtidos nos estudos sobre a segurança e eficácia da lisina sugerem que a administração oral de lisina é segura, reduz os episódios de excreção viral em gatos com infecção latente e reduz a gravidade da conjuntivite em gatos com infecção primária (Stiles, Townsend, Rogers & Krohne, 2002; Maggs, Nasisse & Kass, 2003; Fascetti, Maggs, Kanchuk, Clarke & Rogers, 2004; Maggs, 2010a). No entanto, existe evidência de que a administração de lisina não é eficaz em grupos de gatos, como abrigos, provavelmente devido ao stress provocado pela administração (Maggs *et al.*, 2007; Rees & Lubinski, 2008; Drazenovich *et al.*, 2009; Maggs, 2010a). A recomendação actual é a administração de 500 mg de lisina por via oral, na forma de bólus (não como suplemento alimentar), duas vezes por dia (Maggs, 2010a) durante a doença aguda e como medida profiláctica a longo prazo nos gatos com sinais crónicos recidivantes (Maggs, 2005), quando

necessário e até resolução dos sinais clínicos (Stiles, 2003; Greene & Calpin, 2012). Nestes casos, Nos gatinhos, a dose recomendada é de 250 mg duas vezes por dia (Stiles, 2013). Têm sido investigadas outras terapêuticas adjuvantes, como a lactoferrina. A lactoferrina é uma glicoproteína produzida pelas células epiteliais das mucosas de muitos mamíferos que possui propriedades antivirais, entre outras (Maggs, 2005). A lactoferrina bovina demonstrou inibir a replicação *in vitro* do HVF-1, possivelmente através da inibição da adsorção e/ou entrada do vírus na célula (Beaumont, Maggs & Clarke, 2003).

1.4.1.8. Prognóstico

O prognóstico para a resolução da doença ocular causada pelo HVF-1 é geralmente bom, com a terapêutica e a duração de tratamento adequadas (Stiles, 2014). A doença aguda, geralmente auto-limitante, e o estabelecimento de latência neuronal para o resto da vida são, na maioria dos gatos, as únicas sequelas expectáveis da infecção. Uma minoria dos gatos pode sofrer episódios de doença crónica ou recidivante ao longo da vida, presumivelmente devido ao desenvolvimento de respostas imunitárias involuntariamente exuberantes ou suprimidas (Maggs, 2005).

1.4.1.9. Prevenção e controlo

A prevenção e o controlo da infecção por HVF-1 em gatos domésticos que vivam em pequenas populações passam essencialmente pela vacinação. Em grupos maiores, em que a prevalência e excreção viral se supõe superior, é necessária uma abordagem combinada entre a vacinação e medidas para minimizar ou prevenir a transmissão do vírus (Gaskell *et al.*, 2007; Radford, Coyne, Dawson, Porter & Gaskell, 2007).

Uma vez que a infecção por HVF-1 é muito prevalente, é facilmente transmissível e pode ocasionalmente provocar doença grave e, em alguns casos, sinais clínicos crónicos (Richards *et al.*, 2006), a vacinação contra o HVF-1 é recomendada para todos os gatos (Day, Horzinek & Schultz, 2010; ABCD, 2012b; Scherk *et al.*, 2013).

Actualmente existem vacinas para o HVF-1 polivalentes, associadas às vacinas para o CVF e para outros antígenos vacinais (Richards *et al.*, 2006; ABCD, 2012b). Estão disponíveis comercialmente dois tipos de vacinas: vacinas vivas atenuadas e vacinas inactivadas, de administração parentérica. As vacinas intranasais, embora ainda disponíveis nos EUA, já não estão disponíveis na Europa (ABCD, 2012b). Estas vacinas não proporcionam uma protecção completa; induzem protecção contra a doença clínica, reduzindo a gravidade dos sinais clínicos, e reduzem a excreção viral, mas não previnem a infecção ou a latência viral (Richards *et al.*, 2006; Gaskell *et al.*, 2007; ABCD, 2012b). Deste modo, os gatos vacinados continuam a desempenhar um papel importante na população como reservatório do vírus (Gaskell *et al.*, 2012).

Para a vacinação de rotina, qualquer tipo de vacina é apropriado (Gaskell *et al.*, 2012). As vacinas vivas atenuadas parentéricas são seguras, embora ocasionalmente possam ser

observados sinais clínicos transitórios após a sua administração. Na maioria dos casos não é possível esclarecer qual das componentes da vacina (HVF-1 ou CVF) é responsável. Este tipo de vacina mantém alguma capacidade patogénica se ocorrer exposição oronasal accidental à vacina (Gaskell *et al.*, 2007). As vacinas inactivadas geralmente possuem adjuvante, o que pode causar reacções locais ou sistémicas. Raramente, podem desenvolver-se sarcomas associados à vacinação no local da injeção, particularmente quando são utilizados adjuvantes à base de alumínio (Gaskell *et al.*, 2012). A utilização de vacinas inactivadas é geralmente escolhida em fêmeas gestantes e em gatos infectados com FIV ou FeLV (Richards *et al.*, 2006).

Os anticorpos maternos geralmente persistem até às 6 a 8 semanas de idade (Greene & Levy, 2012). A primovacinação consiste na administração de duas doses, às 8 a 9 semanas de idade, com a segunda dose 3 a 4 semanas depois, às 12 semanas de idade (Gaskell, Dawson & Radford, 2010; ABCD, 2012b). No entanto, as directrizes de vacinação da AAFP (*American Association of Feline Practitioners*) e da WSAVA (*World Small Animal Veterinary Association*) recomendam a primeira dose às 6 semanas de idade, repetida a cada 3 a 4 semanas até às 16 semanas de idade. A primeira revacinação deve ser realizada 1 ano após a última dose da primovacinação. Depois disso, a AAFP e a WSAVA recomendam a revacinação a cada 3 anos, excepto nos casos em que o animal se encontre numa situação de elevado risco de exposição. Nesta situação, pode ser considerado um reforço vacinal adicional (Gaskell *et al.*, 2010; Day *et al.*, 2010; Scherk *et al.*, 2013). Nas directrizes da ABCD é recomendada a revacinação anual, excepto nos gatos em situações de risco reduzido, por exemplo, gatos sem acesso ao exterior que não tenham contacto com outros gatos (ABCD, 2012b).

1.4.1.10. Importância na Saúde Pública

Os vírus associados à doença respiratória felina (HVF-1 e CVF) possuem uma grande especificidade em relação ao hospedeiro e não representam risco para a saúde humana (Gaskell *et al.*, 2012).

1.4.2. *Chlamydophila felis*

1.4.2.1. Etiologia

A *C. felis* (previamente *Chlamydia psittaci* var. *felis*) é uma bactéria intracelular obrigatória, gram-negativa e cocóide, que pertence à ordem *Chlamydiales* e família *Chlamydiaceae*. Embora a sua parede celular seja estruturalmente semelhante à de bactérias gram-negativas, difere destas pela ausência da camada de peptidoglicano. São extremamente limitadas metabolicamente, pelo que só conseguem sobreviver e reproduzir-se no interior de células do seu hospedeiro (Willey, Sherwood & Woolverton, 2009a; Sykes & Greene, 2012).

O ciclo de desenvolvimento da *C. felis* é único, envolvendo duas formas morfológicas da bactéria: o corpo elementar (CE) – extracelular, infeccioso e metabolicamente inactivo - e o corpo reticulado (CR) – intracelular, não-infeccioso e metabolicamente activo. A reprodução da *C. felis* inicia-se com a endocitose dos CEs pelas células epiteliais do hospedeiro. No interior de inclusões intracitoplasmáticas, os CEs reorganizam-se e formam os CRs. Estes multiplicam-se por divisão binária e a inclusão aumenta suficientemente de tamanho de modo a ser observada ao microscópio. Em seguida, os CRs reorganizam-se em CEs, que são libertados da célula quando ocorre lise, e consequentemente podem infectar outras células do hospedeiro. Este ciclo dura aproximadamente 2 dias (Willey *et al.*, 2009a; Sykes & Greene, 2012). O CE está adaptado para uma sobrevivência prolongada no ambiente extracelular, proporcionada pela sua estrutura rígida que lhe confere resistência a factores físicos e químicos (Longbottom & Coulter, 2003). No entanto, apenas sobrevivem durante alguns dias à temperatura ambiente e são facilmente inactivados pela maioria dos desinfectantes (Sykes, 2013a).

Com base em técnicas de DNA *fingerprinting* foram documentadas pelo menos duas estirpes (Pudjiatmoko *et al.*, 1997 citado por Sykes, 2005). Estudos serológicos revelam que podem existir várias estirpes de *C. felis*, que podem diferir na virulência (Sykes, 2005).

Mais recentemente foi detectada a presença de *Neochlamydia hartmannellae*, através de PCR, em gatos com conjuntivite. Este microrganismo pertence à família *Parachlamydiaceae*, um grupo de microrganismos semelhantes às clamídias que vivem em simbiose com amebas. No entanto, o significado clínico da mesma na conjuntivite do gato permanece por determinar (von Bomhard *et al.*, 2003; Sykes, 2005).

1.4.2.2. Epidemiologia

A *C. felis* tem uma distribuição mundial. A prevalência da infecção varia entre as populações de gatos em estudo, com o método de detecção utilizado, com a idade dos gatos e com a presença ou ausência de doença clínica. A infecção é mais comum em ambientes com vários animais, particularmente em colónias e gatis (Sykes, 2013a).

A seroprevalência é elevada, com mais de 10% de gatos domésticos não vacinados (Gunn-Moore *et al.*, 1995 citado por Sykes & Greene) e até 64% de gatos de gatis com anticorpos detectáveis contra a *C. felis* (Gould & Papasouliotis, 2013). Em gatos com conjuntivite a *C. felis* foi isolada em até 56% dos animais (Hartmann *et al.*, 2010; Wills *et al.*, 1988 citado por Sykes & Greene, 2012). A prevalência da *C. felis* em gatos saudáveis é baixa (Sykes, 2005). Em gatos domésticos clinicamente saudáveis, com conjuntivite activa ou com história de conjuntivite, ou com conjuntivite activa, 0%, 4,6% e 7,3% tiveram PCR positivos, respectivamente (Low, Powell, Veir, Hawley & Lappin, 2007). As co-infecções com outros agentes patogénicos, tais como o HVF-1, CVF, *Mycoplasma* spp. também podem ocorrer

(Wills *et al.*, 1998 citado por Sykes, 2005; von Bomhard *et al.*, 2003; Low *et al.*, 2007; Hartmann *et al.*, 2010)

A infecção por *C. felis* é mais comum em gatos jovens, especificamente com idades compreendidas entre os 2 meses e 1 ano de idade. A partir desta idade, a prevalência da infecção diminui progressivamente, presumivelmente devido ao aumento da imunidade natural com o avançar da idade. A infecção é menos provável em gatos com mais de 5 anos. Gatinhos com menos do que 8 semanas de idade encontram-se presumivelmente protegidos pelos anticorpos maternos, embora as infecções neonatais ocorram (Sykes, Anderson, Studdert & Browning, 1999b; Sykes & Greene, 2012).

A transmissão ocorre por contacto directo com as secreções oculares de um gato infectado, fómites ou, menos frequentemente, por aerossóis (Sykes, 2013a). Os gatos com conjuntivite são considerados a principal fonte de infecção, uma vez que a aparência de conjuntivite é coincidente com a excreção ocular de *C. felis* (TerWee *et al.*, 1998; Holst, Krook, Englund, Lagerstedt & Bölske, 2011). No entanto, a excreção pode continuar por um período após a resolução dos sinais clínicos (Holst *et al.*, 2011). Pensa-se que os neonatos adquirem a infecção principalmente através do contacto com a mucosa genital da progenitora durante o parto (TerWee *et al.*, 1998; Sykes & Greene, 2012). A excreção vaginal da *C. felis* foi descrita em gatos, porém desconhece-se se a transmissão venérea ocorre nesta espécie e se sim, qual a sua importância epidemiológica (Holst *et al.*, 2011; Sykes & Greene, 2012).

1.4.2.3. Patogénese

A *C. felis* é um agente patogénico primário da conjuntiva, sendo uma causa importante de conjuntivite no gato (Sykes, 2005). Também infecta o tracto respiratório superior e é também isolado no aparelho gastrointestinal e no aparelho reprodutor (Cullen & Webb, 2013).

A patogénese da *C. felis* permanece desconhecida, embora a *C. felis* tenha uma predilecção pelas células epiteliais da conjuntiva (TerWee *et al.*, 1998; Sykes, 2005). A conjuntivite resulta da lise celular que ocorre durante a libertação dos corpos elementares (Cullen & Webb, 2013). A inflamação da membrana nictitante também é comum (Masubuchi *et al.*, 2002; Sykes & Greene, 2012). Adicionalmente, ocorre disseminação sistémica com desenvolvimento de febre e infecção de vários tecidos, tais como pulmão, amígdalas, fígado, rim, baço, aparelho gastrointestinal e peritонеu (TerWee *et al.*, 1998; Masubuchi *et al.*, 2002; Sykes, 2013a). Porém, desconhece-se o significado da presença da *C. felis* nestes tecidos (Sykes, 2005). A infecção pode ser transmitida experimentalmente por transfusão sanguínea, com desenvolvimento de sinais clínicos sistémicos e de conjuntivite. Esta fase sistémica da doença é, no entanto, menos frequentemente descrita na infecção natural (TerWee *et al.*, 1998). Não obstante, pode explicar a razão pela qual a terapêutica tópica não é suficiente (Sykes, 2005). A terapêutica sistémica é geralmente necessária para

eliminar a excreção da *C. felis* (Sparkes *et al.*, 1999 citado por Owen, Sturgess, Harbour, Egan & Gruffydd-Jones, 2003).

A infecção torna-se frequentemente crónica e insidiosa, podendo persistir durante vários meses. Durante esta fase o animal pode apresentar conjuntivite intermitente ou passar por períodos assintomáticos. Desconhece-se, porém, se a cronicidade da doença se deve à reinfeção repetida ou à persistência da *C. felis* na conjuntiva e em tecidos não-oculares (Sykes, 2013a). Em gatos não tratados, a *C. felis* foi isolada a partir da conjuntiva até 215 dias após a infecção experimental. No entanto, na maioria dos casos, a excreção conjuntival termina cerca de 60 dias após a infecção (Sykes, 2005). Em alguns gatos infectados, para além da excreção ocular, também ocorre excreção vaginal e rectal prolongada, o que leva alguns autores a sugerir que o aparelho gastrointestinal e o aparelho reprodutor podem ser locais de persistência da *C. felis* (Sykes, 2005).

As co-infecções com outros agentes patogénicos, tais como HVF-1, CVF, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma* spp. ou FIV podem aumentar a gravidade da infecção (Sykes & Greene, 2012). A co-infecção com o FIV prolongou a duração dos sinais clínicos e pode levar ao desenvolvimento de conjuntivite crónica (O'Dair, Hopper, Gruffydd-Jones, Harbour & Waters, 1994). Outras bactérias podem também actuar como agentes oportunistas secundários e agravar a doença (Sykes & Greene, 2012).

1.4.2.4. Sinais clínicos

Tipicamente ocorre conjuntivite aguda, crónica ou recidivante. Os sinais clínicos surgem após um período de incubação de 2 a 5 dias (Gould & Papasouliotis, 2013). Incluem hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular seroso a mucopurulento e blefarospasmo (Sykes & Greene, 2012). A quemose é a característica predominante da clamidiose (ABCD, 2008; Maggs, 2008b). Inicialmente a conjuntivite é frequentemente unilateral, mas tipicamente progride torna-se bilateral dentro de alguns dias (ABCD, 2008; Maggs, 2008b).

A conjuntivite é habitualmente associada a um infiltrado inflamatório neutrofílico. Os sinais do tracto respiratório superior concomitantes e os sinais sistémicos são pouco comuns (Sykes & Greene, 2012; Gould & Papasouliotis, 2013). Pode ocorrer febre transitória e inapetência, mas a maioria dos gatos permanece bem (Sykes, 2005). Sinais de rinite ligeiros, como corrimento nasal e espirros, podem ocorrer em alguns gatos (Sykes & Greene, 2012). No entanto, os sinais respiratórios na ausência de envolvimento ocular concomitante devem-se pouco provavelmente à infecção por *C. felis* (Sykes *et al.*, 1999b; Sykes & Greene, 2012). A *C. felis* é por vezes isolada em casos de conjuntivite neonatal (Sykes, 2005; Sykes & Greene, 2012). O envolvimento da córnea, como queratite ou ulceração da córnea, é raro (Crispin, 2002a; Sykes, 2005). Quando presente, deve suspeitar-se de infecção concomitante por HVF-1 (Sykes, 2005; Cullen & Webb, 2013). Podem ocorrer complicações oculares como adesões da conjuntiva (ABCD, 2008).

Pode verificar-se uma melhoria dos sinais clínicos dentro de algumas semanas (Sykes, 2005), mas se não for tratada, a infecção pode dar origem a conjuntivite crónica e pode ocorrer um estado de portador prolongado (Owen *et al.*, 2003; Maggs, 2008b; Stiles, 2013). Com a cronicidade, a hiperémia, a quemose e o corrimento ocular diminuem (Ramsey, 2000; Rampazzo *et al.*, 2003), mas pode verificar-se o desenvolvimento de membranas, hiperplasia conjuntival e formação de folículos linfóides (Ramsey, 2000; Rampazzo *et al.*, 2003; Maggs, 2008b).

Os sinais clínicos sistémicos observados na infecção experimental, adicionalmente à conjuntivite, incluem febre, letargia, claudicação e perda de peso (TerWee *et al.*, 1998; Sykes & Greene, 2012). Embora o mecanismo proposto para a claudicação seja o desenvolvimento de poliartrite, não existem estudos que o comprovem (Sykes & Greene, 2012).

1.4.2.5. Diagnóstico

Não sendo possível estabelecer um diagnóstico definitivo de conjuntivite por *C. felis* apenas com base nos sinais clínicos (Tabela 2) (Sykes, 2005), este requer a detecção da bactéria em zaragatoas ou raspagens conjuntivais (Richards *et al.*, 2006; Stiles, 2012).

1.4.2.5.1. Detecção de antígeno

A realização de uma citologia conjuntival para pesquisa de corpos de inclusão intracitoplasmáticos de *C. felis* é um método de diagnóstico pouco sensível (Richards *et al.*, 2006; Sykes, 2013a). As inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* são observadas como aglomerados basofílicos de corpos elementares cocóides (Hillström *et al.*, 2013). A citologia conjuntival pode ser um método de diagnóstico valioso quando são observados muitos corpos de inclusão (Hillström *et al.*, 2012), porém estes só são geralmente visíveis no início da infecção, sendo raramente observados em infecções crónicas (Rampazzo *et al.*, 2003; Sykes, 2013a). Adicionalmente, a presença de grânulos de melanina pode levar a resultados falsos-positivos (Sykes, 2013a).

A utilização de técnicas de imunofluorescência pode tornar a detecção de *C. felis* mais sensível e específica (Sykes, 2013a). Porém, a IFA não é frequentemente realizada, devido à sua baixa sensibilidade e especificidade (Ramsey, 2000; Rampazzo *et al.*, 2003).

O isolamento em cultura de células é tradicionalmente considerada a técnica *gold standard* para o diagnóstico da infecção por *C. felis* (Sykes & Greene, 2012). Os microrganismos devem estar viáveis e presentes em quantidade suficiente para crescer em cultura. Problemas durante o transporte e armazenamento que levem à perda de viabilidade da *C. felis*, infecções crónicas ou gatos que já tenham iniciado o tratamento com antibióticos podem diminuir a sensibilidade deste teste (Sykes, Studdert & Browning, 1999a; Rampazzo *et al.*, 2003; Sykes, 2013a). Para além disso, é uma técnica que requer um meio de

transporte específico e é tecnicamente exigente, dispendiosa e demorada (Sykes, 1999a; Sykes, 2005). Assim, a cultura não é rotineiramente realizada, sendo apenas utilizada em investigação (Rampazzo *et al.*, 2003; Sykes & Greene, 2012).

O PCR é actualmente a técnica laboratorial de eleição para o diagnóstico desta infecção (Gould, 2001; ABCD, 2008). O PCR é mais sensível do que a cultura (Sykes *et al.*, 1999a; Sykes & Greene, 2012). Este método é rápido, sensível e, como a viabilidade do microrganismo não é necessária para a realização do PCR, as condições de transporte são mais simples do que as da cultura (Sykes & Greene, 2012). Têm sido desenvolvidos vários testes de PCR para a detecção de *C. felis* (Sykes, 2013a). No entanto, existe uma variação considerável nas taxas de detecção entre diferentes laboratórios (Sandmeyer, Waldner, Bauer, Wen & Bienzle, 2010; Sykes, 2013a).

1.4.2.5.2. Detecção de anticorpo

Os testes serológicos não estão amplamente disponíveis e não são rotineiramente utilizados no diagnóstico de infecções por *C. felis*. Estes testes, tais como IFA ou ELISA, possuem um valor diagnóstico limitado na detecção de uma infecção activa (Sykes, 2013a). Títulos de anticorpos muito elevados têm sido associados a gatos sintomáticos ou em fase de excreção de *C. felis* (Holst *et al.*, 2011; Sykes, 2013a). No entanto, a seropositividade pode indicar apenas exposição ao microrganismo, mesmo com um título de anticorpos elevado (Rampazzo *et al.*, 2003). Adicionalmente, a vacinação recente pode interferir com a interpretação de um título positivo (Sykes, 2012a).

1.4.2.6. Tratamento

O tratamento consiste na antibioterapia tópica e sistémica (Sykes & Greene, 2012). As clamídias são susceptíveis às tetraciclina, eritromicina, rifampicina, fluoroquinolonas e azitromicina (Stamm, 1998 citado por Sykes, 2005). As tetraciclina são geralmente consideradas o antibiótico de eleição para o tratamento da infecção por *C. felis* (ABCD, 2008). Sykes e Greene (2012) sugerem as seguintes opções terapêuticas para o tratamento da clamidiose felina: doxiciclina, amoxicilina – ácido clavulânico, pradofloxacina, enrofloxacina e azitromicina.

A doxiciclina é actualmente considerada o tratamento de eleição para a infecção por *C. felis* (Dean, Harley, Helps, Caney & Gruffydd-Jones, 2005; Sykes, 2013a). A evidência de que a *C. felis* persiste e é excretada a partir de tecidos extraoculares, em conjunto com os estudos que compararam o tratamento sistémico e tópico, demonstram que a terapêutica sistémica é mais eficaz na diminuição dos sinais clínicos e na excreção da *C. felis* do que a terapêutica tópica (Sparkes, Caney, Sturgess & Gruffydd-Jones, 1999; Maggs, 2008b; Maggs, 2012b; Stiles, 2012). Dentro das várias opções de antibióticos sistémicos, a doxiciclina parece ser a mais eficaz na eliminação da infecção (Sturgess, Gruffydd-Jones, Harbour & Jones, 2001;

Owen *et al.*, 2003; Gerhardt, Schulz, Werckenthin & Hartmann, 2006; Hartmann *et al.*, 2008). O tratamento com doxiciclina deve ser realizado por um período de tempo prolongado, durante 21 a 28 dias, de forma a assegurar a eliminação da infecção (Dean *et al.*, 2005; Sykes & Greene, 2012). As doses recomendadas são 5–10 mg/kg a cada 12 horas ou 10–15 mg/kg a cada 24 horas, durante 3 a 4 semanas PO (Sykes & Grene, 2012). Alguns autores defendem que o tratamento deve ser continuado por mais 2 semanas após a resolução dos sinais clínicos, para evitar as recidivas (Owen *et al.*, 2003; Sykes & Greene, 2012). Para além disso, recomenda-se que todos os gatos que estão em contacto sejam tratados, uma vez que pode haver infecções assintomáticas, que podem resultar em reinfecções cíclicas (Owen *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2005; Maggs, 2012b).

A administração de doxiciclina pode causar esofagite e formação de estenose esofágica (German *et al.*, 2005; Frowde, Battersby, Whitley & Elwood, 2011). Deste modo, e sempre que possível, deve evitar-se fraccionar os comprimidos (Sykes & Greene, 2012; Sykes & Papich, 2013a).

O tratamento tópico com oxitetraciclina (q4-6h) pode ser associado ao tratamento sistémico, especialmente se a conjuntivite for grave (Ramsey, 2000; Maggs, 2012b; Stiles, 2012). Esta pomada oftálmica pode causar uma reacção de hipersensibilidade em alguns gatos (Ramsey, 2000; Crispin, 2002a). Em alternativa pode ser utilizado o cloranfenicol (Glaze, 2008). As pomadas oftálmicas triplas de neomicina – polimixina B – bacitracina são ineficazes contra a *C. felis* (Glaze, 2008; Maggs, 2012b; Morgan & Rothrock, 2012).

A amoxicilina – ácido clavulânico (12,5–25 mg/kg PO, a cada 8 a 12 horas durante 4 semanas) é uma alternativa eficaz à doxiciclina (Sturgess *et al.*, 2001; Sykes & Greene, 2012).

Em humanos, as infecções por *Chlamydia trachomatis* são susceptíveis ao tratamento com azitromicina e quinolonas (Sykes & Greene, 2012). No gato, a enrofloxacin (dose máxima de 5 mg/kg PO a cada 24 horas durante 2 a 3 semanas) parece ter uma eficácia similar à doxiciclina (Gerhardt *et al.*, 2006; Sykes & Greene, 2012). No entanto, o risco de degenerescência da retina em gatos tratados com enrofloxacin (Gelatt *et al.*, 2001) faz com que a doxiciclina seja preferida (Sykes & Greene, 2012). A pradofloxacin (5–10 mg/kg PO suspensão oral a cada 24 horas durante 6 semanas), que possui um risco de toxicidade retiniana reduzido (Messias *et al.*, 2008), é menos eficaz no tratamento do que a doxiciclina (Hartmann *et al.*, 2008). O tratamento com azitromicina revelou ser ineficaz na eliminação da infecção, pois o efeito na redução da excreção é apenas temporário, pelo que não é actualmente recomendado por não ser vantajoso quando comparado com a doxiciclina (Owen *et al.*, 2003; Sykes & Greene, 2012).

1.4.2.7. Prognóstico

O prognóstico geralmente é bom. A resposta ao tratamento com doxiciclina é relativamente rápida, verificando-se uma melhoria clínica 24 a 48 horas após o início do tratamento (Dean *et al.*, 2005; Sykes & Greene, 2012). A ausência de resposta ou apenas uma resposta temporária ao tratamento pode reflectir a presença concomitante de outros agentes patogénicos, tais como o HVF-1 ou CVF. Nestes casos, a resposta inicial ao tratamento pode resultar da resolução da infecção bacteriana secundária e da infecção por *C. felis* (Sykes, 2005; Sykes & Greene, 2012).

1.4.2.8. Prevenção e controlo

Estão disponíveis vacinas vivas atenuadas e inactivadas de administração parentérica, como parte integrante de vacinas polivalentes (ABCD, 2008). À semelhança das vacinas contra o HVF-1 e o CVF, as vacinas não proporcionam uma imunidade completa, ou seja, não previnem a infecção ou a excreção da *C. felis*, mas minimizam a sua replicação, reduzindo a gravidade dos sinais clínicos (Richards *et al.*, 2006; ABCD, 2008; Sykes & Greene, 2012).

Numa pequena percentagem dos gatos pode ocorrer uma reacção pós-vacinal, com febre transitória, anorexia, letargia e claudicação, 7 a 21 dias após a administração de vacinas com a componente viva atenuada da *C. felis* (Richards *et al.*, 2006; Sykes & Greene, 2012).

A vacinação contra a *C. felis* é considerada como não essencial (Day *et al.*, 2010; Scherk *et al.*, 2013). Deve ser considerada em gatos com elevado risco de exposição (Sykes & Greene, 2012), nomeadamente em ambientes com vários gatos, onde a doença causada por *C. felis* foi confirmada (Richards *et al.*, 2006; Day *et al.*, 2010).

Os anticorpos maternos contra a *C. felis* podem persistir até às 7 a 9 semanas de idade (Sykes & Greene, 2012). Se for determinada adequada, a vacinação consiste na administração de duas doses: a primeira às 9 semanas de idade e a segunda dose 3 a 4 semanas depois (Richards *et al.*, 2006; Day *et al.*, 2010). A revacinação anual é recomendada para os gatos com risco de exposição contínuo (Richards *et al.*, 2006; ABCD, 2008; Day *et al.*, 2010).

1.4.2.9. Importância na Saúde Pública

A *C. felis* tem sido implicada em casos de conjuntivite humana (Browning, 2004; Sykes, 2013a). No entanto, existe apenas um caso comprovado de infecção zoonótica, em que a *C. felis* foi detectada num paciente imunodeprimido com conjuntivite crónica (Hartley *et al.*, 2001). Assim, existe pouca evidência epidemiológica de que a *C. felis* represente um risco zoonótico significativo (Browning, 2004; ABCD, 2008) e pensa-se que, mesmo em seres humanos imunocomprometidos, a transmissão zoonótica é incomum (Glaser, Powers &

Greene, 2012). No entanto, devem ser tomadas precauções de rotina quando em contacto com gatos com conjuntivite (Sykes, 2013a).

1.4.3. *Mycoplasma* spp.

1.4.3.1. Etiologia

Os micoplasmas são divididos em micoplasmas hemotrópicos e não-hemotrópicos, mas apenas os não-hemotrópicos estão envolvidos na doença ocular (Gould & Papasouliotis, 2013). Os *Mycoplasma* spp. pertencem à classe *Mollicutes*, ordem *Mycoplasmatales* e família *Mycoplasmataceae* (Prescott, Klein & Hartley, 2005).

Os micoplasmas são bactérias de pequenas dimensões, pleomórficas e sem parede celular. Devido ao seu reduzido tamanho, têm uma capacidade metabólica limitada e o seu crescimento depende de um ambiente rico em nutrientes, que encontram nas membranas mucosas dos seus hospedeiros. A ausência de parede celular torna-os frágeis fora do hospedeiro, sendo susceptíveis à desidratação, ao calor, aos detergentes e desinfectantes, mas são resistentes aos antibióticos inibidores da síntese da parede celular (Quinn, Markey, Carter, Donnelly & Leonard, 2002; Willey *et al.*, 2009b; Greene & Chalker, 2012). No entanto, são capazes de sobreviver por períodos variáveis fora do hospedeiro, dependendo da temperatura e da humidade (Greene & Chalker, 2012). São maioritariamente anaeróbios facultativos, mas alguns são anaeróbios obrigatórios (Willey *et al.*, 2009b).

1.4.3.2. Epidemiologia

O *Mycoplasma felis* tem sido a espécie patogénica predominante, mas outras espécies têm sido isoladas no gato, como por exemplo o *Mycoplasma gateae* e o *Mycoplasma cynos* (Hartmann *et al.*, 2010; Haesebrouk *et al.*, 1991 citado por Gould & Papasouliotis, 2013). A infecção é comum tanto em colónias de gatos como em gatos domésticos e o *Mycoplasma* spp. tem sido isolado em gatos saudáveis e doentes (Willoughby & Bennet, 2004).

A transmissão dá-se predominantemente por contacto directo ou fómite, especialmente em ambientes com elevada densidade populacional ou fracas condições de higiene (Sykes, 2013c).

1.4.3.3. Patogénese

Os *Mycoplasma* spp. são bactérias isoladas a partir das membranas mucosas de animais saudáveis, mas a elevada taxa de isolamento em animais doentes sugere que também desempenham um papel patogénico sob determinadas circunstâncias (Gould & Papasouliotis).

Os micoplasmas aderem às células das membranas mucosas do hospedeiro, onde permanecem extracelulares, e os mecanismos patogénicos incluem a produção de hemolisinas, proteases e nucleases, que provocam lesão celular (Moore & Nasisse, 1999;

Quinn *et al.*, 2002; Gould & Papasouliotis, 2013). Alguns micoplasmas podem tornar-se intracelulares, o que resulta em infecções crónicas persistentes (Greene & Chalker, 2012).

O papel do *Mycoplasma spp.* como causa de conjuntivite no gato é pouco claro e alvo de debate na literatura consultada (Stiles, 2013). Se por um lado os *Mycoplasma spp.* são considerados como constituintes da microbiota do saco conjuntival felino, pois são frequentemente isolados em gatos com olhos saudáveis (Low *et al.*, 2007), por outro são implicados como agentes patogénicos da conjuntiva, pois são isolados em gatos com conjuntivite (Low *et al.*, 2007; Maggs, 2008b; Hartmann *et al.*, 2010; Stiles, 2013). Em gatos com conjuntivite, o *Mycoplasma spp.* foi o microrganismo mais prevalente, em comparação com o HVF-1 e com a *C. felis* (Low *et al.*, 2007; Sandmeyer *et al.*, 2010). Experimentalmente, o *M. felis* causou conjuntivite em gatos saudáveis e jovens em alguns estudos, mas noutros estudos não (Stiles, 2013). Estudos demonstram que a prevalência da infecção por *Mycoplasma spp.* é superior em gatos com conjuntivite comparativamente com gatos clinicamente saudáveis. As prevalências detectadas por PCR ou cultura em zaragatoas conjuntivais de gatos com conjuntivite foram 9,6% e 25%, respectivamente, comparativamente aos valores de 2,3% e 0% encontrados nos gatos clinicamente saudáveis (Low *et al.*, 2007; Haesebrouk *et al.*, 1991 citado por Greene & Chalker, 2012). Estes resultados são compatíveis com o possível papel deste agente na patogénese da conjuntivite felina (Greene & Chalker, 2012).

No entanto, alguns autores referem que é pouco provável que os *Mycoplasma spp.* sejam agentes patogénicos primários da conjuntiva mas que é possível que actuem como agentes patogénicos secundários na presença de um factor predisponente, como uma co-infecção com o HVF-1 ou *C. felis*, ou em animais imunocomprometidos (Whitley, 2000; Gould, 2001; Stiles, 2012; Sykes, 2013c).

O *M. felis* ou o *M. gateae* foram ainda isolados e associados a casos de gatos com queratite ulcerativa, queratomalácia ou ambos. Embora não se pense que tenham sido os agentes etiológicos primários, pensa-se que foram clinicamente relevantes para o quadro clínico (Gray, Ketring & Tang, 2005).

Embora o *Mycoplasma spp.* também seja associado ao desenvolvimento de doença respiratória, o seu papel também é pouco claro (Veir, 2011; Gaskell *et al.*, 2012). Há autores que consideram que o *Mycoplasma spp.* é um agente etiológico na doença do tracto respiratório superior felina, quer actue como agente patogénico primário, quer como agente patogénico secundário oportunista (Bannasch & Foley, 2005; Kompare, Litster, Leutenegger & Weng, 2013). Bannasch e Foley (2005) detectaram taxas superiores deste agente em gatos com doença do tracto respiratório superior comparativamente com gatos saudáveis (Veir, 2011). Todavia, são igualmente isolados na orofaringe e na cavidade nasal de gatos saudáveis (Tan *et al.*, 1977 citado por Veir, 2011; Randolph *et al.*, 1993 citado por Veir, 2011).

Por norma, o *Mycoplasma* spp. não é encontrado no tracto respiratório inferior do gato (Willoughby & Bennet, 2004). Porém, a maioria dos *Mycoplasma* spp. que habitam o tracto respiratório superior já foram isolados em gatos com doença respiratória inferior (Chandler & Lappin, 2002; Foster, Martin, Allan, Barrs & Malik, 2004).

O *M. felis* e *M. gatae* também foram associados a casos de artrite (Ernst & Goggin, 1999; Liehmann, Degasper, Spargser & Niebauer, 2006; Zeugswetter, Hittmair, Arespachoga, Shibly & Spargser, 2007). O *M. gatae* é considerado como um agente da microbiota da conjuntiva e do tracto respiratório superior do gato, sendo provavelmente pouco patogénico nestes locais (Moore & Nasisse, 1999; Willoughby & Bennet, 2004).

1.4.3.4. Sinais clínicos

A conjuntivite causada por *Mycoplasma* spp. é geralmente moderada (Rand, 2006). Os sinais clínicos descritos incluem conjuntivite unilateral ou bilateral (Whitley, 2000; Rand, 2006), com corrimento ocular seroso, que posteriormente se torna mucopurulento (Greene & Chalker, 2012). Inicialmente pode haver hiperémia conjuntival, quemose, blefarospasmo, epífora, hipertrofia papilar ou formação de folículos linfóides (Whitley, 2000; Crispin, 2002a; Martin, 2010b; Greene & Chalker, 2012). De seguida, a conjuntiva pode tornar-se pálida e espessada (Rand, 2006; Martin, 2010b; Greene & Chalker, 2012). Ocasionalmente há formação de uma pseudomembrana que consiste na presença de exsudado espessado esbranquiçado que cobre a conjuntiva (Whitley, 2000; Crispin, 2002a; Martin, 2010b). O curso normal da doença em animais que não recebem tratamento é de 60 dias (Greene & Chalker, 2012).

O envolvimento da córnea não é comum; no entanto, a sua presença pode reflectir a presença concomitante do HVF-1 ou de outros factores predisponentes à invasão secundária por esta bactéria (Gray *et al.*, 2005; Sykes, 2013c). Quando presentes, os sinais de infecção do tracto respiratório superior consistem em espirros e corrimento nasal (Rand, 2006; Sykes, 2013c).

1.4.3.5. Diagnóstico

1.4.3.5.1. Detecção de antígeno

Na citologia conjuntival, os *Mycoplasma* spp. são observados como aglomerados de estruturas basófilas de pequenas dimensões, com forma cocóide ou cocobacilar. Têm uma aparência semelhante aos corpos de inclusão da *C. felis*, mas estes aglomerados são visualizados ao nível da membrana citoplasmática das células epiteliais. A resposta celular é caracterizada pela predominância de leucócitos polimorfonucleares (Whitley, 2000; Hillström *et al.*, 2012). O seu tamanho reduzido torna a sua visualização ao microscópio electrónico difícil. Devido à ausência de parede celular, não coram com corante de Gram (Sykes, 2013c). Hillström *et al.* (2012) concluíram que são muito frequentemente obtidos resultados

falsos-negativos, pelo que a citologia não é um método de diagnóstico fiável para a detecção de *M. felis*.

A cultura bacteriana tem sido o método de diagnóstico tradicional para a detecção de *M. felis*. (Hartmann *et al.*, 2010; Söderlund, Bölske, Holst & Aspán, 2011). O isolamento desta bactéria pode ser realizado a partir de uma zaragatoa conjuntival (Rand, 2006). Outras amostras podem ser submetidas para cultura, como por exemplo, zaragatoas da cavidade nasal ou de córnea (Sykes, 2013c). No entanto, o significado clínico de uma cultura positiva é de difícil interpretação, uma vez que o *M. felis* é encontrado na conjuntiva de animais saudáveis e, portanto, o seu isolamento não confirma o envolvimento etiológico e os resultados devem ser interpretados juntamente com o quadro clínico e com os resultados de outros testes de diagnóstico (Quinn *et al.*, 2002; Crispin, 2005; Sykes, 2013c). Deve ser investigada a possibilidade de co-infecções com outros agentes infecciosos (Crispin, 2005). Mais recentemente, o PCR tem sido utilizado para a detecção e diferenciação de espécies de *Mycoplasma* (Greene & Chalker, 2012; Sykes, 2013c). O PCR é mais sensível do que a cultura e, adicionalmente, os resultados são obtidos mais rapidamente (Chalker, Owen, Paterson & Brownlie, 2004; Hartmann *et al.*, 2010; Söderlund *et al.*, 2011). Tal como na cultura bacteriana, um resultado de PCR positivo para *Mycoplasma* spp. pode ser pouco esclarecedor (Sykes, 2013c).

1.4.3.6. Tratamento

O *Mycoplasma* spp. e a *C. felis* têm padrões de susceptibilidade a antibióticos semelhantes (Maggs, 2008b). Como podem ocorrer co-infecções entre estas duas bactérias (Glaze & Gellat, 1999; Hillström *et al.*, 2012), as tetraciclina tópicas e sistémicas são uma excelente escolha para o tratamento da conjuntivite por *Mycoplasma* spp. (Maggs, 2008b). A oxitetraciclina pode ser utilizada topicamente e a doxiciclina pode ser administrada oralmente (Stiles, 2013).

Em gatos com infecção do tracto respiratório superior, o tratamento com doxiciclina ou pradofloxacina sistémicas demonstraram ser eficazes contra *Mycoplasma* spp. (Hartmann *et al.*, 2008; Greene & Chalker, 2012; Kompare *et al.*, 2013).

O prognóstico é bom quando se utiliza um antibiótico apropriado. Alguns gatos podem desenvolver doença crónica (Rothrock, 2012).

1.4.3.7. Prevenção e controlo

Actualmente não existe vacina para prevenir ou limitar a infecção por *Mycoplasma* spp. no gato (Greene & Chalker, 2012). Os *Mycoplasma* spp. são facilmente inactivados pela maioria dos desinfectantes (Sykes, 2013c).

1.4.3.8. Importância na Saúde Pública

As infecções por *Mycoplasma felis* não têm sido consideradas como um risco para a Saúde Pública. No entanto, existe um caso documentado de infecção zoonótica (Greene & Chalker, 2012) numa pessoa imunocomprometida (Bonilla *et al.*, 1997).

1.4.4. Calicivírus felino

1.4.4.1. Etiologia

O calicivírus felino (CVF) é um vírus RNA de cadeia simples, sem invólucro, que pertence ao género *Versivirus* da família *Caliciviridae* (MacLachlan & Dubovi, 2011a). Sendo um vírus RNA, o processo de replicação viral do CVF é impreciso, pelo que ocorrem frequentemente erros no genoma durante a replicação. Isto confere ao vírus uma grande adaptabilidade e variabilidade, que se manifestam ao nível genómico, antigénico e clínico, e que tem importantes implicações na vacinação (Radford, Dawson, Coyne, Porter & Gaskell, 2006; Pesavento, Chang & Parker, 2008). Existem várias estirpes de CVF que, embora possuam elevada diversidade antigénica, pertencem a um único serotipo. Geneticamente, as estirpes de CVF pertencem a um genótipo (Radford, Coyne, Dawson, Porter & Gaskell, 2007). A maioria das estirpes induz um grau variável de imunidade cruzada, no entanto, é possível os gatos se infectarem sucessivamente (Radford *et al.*, 2006; Gaskell *et al.*, 2012).

O CVF pode sobreviver no meio ambiente durante vários dias a várias semanas, em superfícies secas e à temperatura ambiente, ou por mais tempo, em condições de maior humidade e de temperaturas baixas (Radford *et al.*, 2007). A ausência de um invólucro lipídico torna-o resistente a muitos desinfetantes, mas é inactivado por hipoclorito de sódio 5% (lixívia diluída a 1:32) (Gaskell *et al.*, 2012).

1.4.4.2. Epidemiologia

O CVF possui uma distribuição mundial, geralmente com prevalências mais elevadas em grupos de gatos (Radford *et al.*, 2007). O vírus é predominantemente excretado nas secreções orais, nasais e oculares. A transmissão ocorre principalmente por contacto directo (Hurley & Sykes, 2003; Gaskell *et al.*, 2012). A maioria dos gatos com infecção aguda excreta o vírus durante cerca de 30 dias após a infecção (Radford *et al.*, 2007). Porém, alguns gatos podem desenvolver uma infecção persistente (estado de portador), caracterizada por excreção viral mais ou menos contínua por períodos de tempo variáveis, embora a maioria dos animais acabe por eliminar a infecção espontaneamente (Coyne *et al.*, 2006; Richards *et al.*, 2006; Coyne, Gaskell, Dawson, Porter & Radford, 2007; Radford *et al.*, 2007). A transmissão indirecta através de fómites também é importante, particularmente em gatis (Radford *et al.*, 2007; Sykes, 2013a). Os aerossóis não são considerados como um meio de transmissão importante (Gaskell *et al.*, 2012).

O CVF infecta gatos domésticos e outros membros da família *Felidae* (Pesavento *et al.*, 2008; Gaskell *et al.*, 2012). Não são conhecidos reservatórios ou hospedeiros alternativos do vírus e a transmissão uterina parece não ocorrer (Radford *et al.*, 2007).

Apesar da vacinação, os portadores estão distribuídos pela população, com prevalências aproximadamente de 10% em gatos domésticos e de 25% a 75% em colónias. Estes animais desempenham um papel crucial na epidemiologia da infecção (Radford *et al.*, 2007). Pensa-se que o vírus persiste nas amígdalas e em outros tecidos da orofaringe de gatos portadores, pois pode ser detectado nestes locais. O mecanismo de persistência da infecção não é totalmente conhecido, mas pensa-se que a evolução viral leva à variação antigénica da proteína da cápside viral, o que permite ao vírus a evasão da resposta do sistema imunitário do hospedeiro (Coyne *et al.*, 2006; Radford *et al.*, 2007; Sykes, 2013a).

Estudos em colónias endemicamente infectadas têm demonstrado que, apenas uma minoria está verdadeiramente persistentemente infectada. Nestes animais há evolução progressiva da mesma estirpe viral ao longo do tempo e pensa-se que não existe fase latente, ao contrário do que acontece com os portadores do HVF-1. Em contraste, a maioria dos gatos portadores passam por ciclos de reinfecção, com uma variante da mesma estirpe ou com diferentes estirpes que circulem na população. Alguns gatos parecem ser resistentes à infecção, o que pode estar relacionado com a idade ou com mecanismos de resistência determinados geneticamente (Coyne *et al.*, 2006; Coyne *et al.*, 2007; Radford *et al.*, 2007; Pesavento *et al.*, 2008; Gaskell *et al.*, 2012). Adicionalmente, a excreção viral é variável entre indivíduos (Coyne *et al.*, 2006; Radford *et al.*, 2007).

1.4.4.3. Patogénese

O CVF é primariamente um agente patogénico do tracto respiratório superior (Stiles, 2013). É também uma causa importante de doença da cavidade oral, mas não é considerado um agente patogénico ocular importante (Gould & Papasouliotis, 2013). Também pode causar poliartrite (Bennet, 2010; Gaskell *et al.*, 2012).

A infecção ocorre por via nasal, oral ou conjuntival (Gaskell *et al.*, 2012). A replicação viral ocorre sobretudo na cavidade oral e nos tecidos do tracto respiratório superior, particularmente na mucosa do septo nasal, nasofaringe e amígdalas. No entanto, as estirpes de CVF podem diferir no tropismo dos tecidos que afectam (Gaskell *et al.*, 2012). Algumas estirpes têm tropismo para o pulmão, enquanto outras podem ter predilecção pelas articulações (Gaskell *et al.*, 2012). O vírus também pode ser detectado nas fezes e ocasionalmente na urina (Foley, 2006; Gaskell *et al.*, 2012). Subsequentemente, o vírus dissemina-se sistemicamente, com virémia transitória 3 a 4 dias após a infecção, e pode ser detectado noutros locais (Foley, 2006; ABCD, 2012a). Em cultura de células, a replicação do CVF causa efeitos citopáticos, provavelmente devido à apoptose de células infectadas (Radford *et al.*, 2007; Pesavento *et al.*, 2008; MacLachlan & Dubovi, 2011a). A infecção leva

ao aparecimento de áreas de necrose epitelial multifocal, com infiltração neutrófila e exsudados fibrinosos (Gaskell *et al.*, 2012). As úlceras orais surgem inicialmente como vesículas que posteriormente rupturam. A regeneração destas lesões ocorre dentro de 2 a 3 semanas (Radford *et al.*, 2007; ABCD, 2012a). As lesões pulmonares ocorrem menos frequentemente (Gaskell *et al.*, 2012).

O CVF também é descrito na literatura consultada como uma causa de conjuntivite no gato, embora seja uma causa mais rara (Crispin, 2002a; Stiles, 2014). Comparativamente ao HVF-1, o CVF possui uma patogenicidade baixa para a conjuntiva, embora possa causar conjuntivite (Cullen & Webb, 2013). No entanto, alguns autores questionam se o vírus desempenha verdadeiramente um papel como agente patogénico da conjuntiva (Ramsey, 2000) e é sugerido que os sinais oculares estão provavelmente associados à co-infecção com outros agentes infecciosos (Crispin, 2005).

Mais recentemente, têm sido descritos surtos de doença virulenta sistémica (VSD) grave com elevada mortalidade, associados a estirpes de CVF hipervirulentas (calicivírus felino virulento sistémico - VS-FCV) (Pedersen, Elliott, Glasgow, Poland, & Keel, 2000; Hurley *et al.*, 2004; Pesavento, MacLachlan, Dillard-Telm, Grant & Hurley, 2004; Reynolds *et al.*, 2009). Nestes casos, o vírus consegue aceder a compartimentos celulares que habitualmente não estão associados à infecção por CVF (Gaskell *et al.*, 2012). A infecção por VS-FCV causa lesão epitelial e endotelial, levando ao aparecimento das lesões e sinais clínicos associados (Pesavento *et al.*, 2004; Pesavento *et al.*, 2011).

O CVF é descrito como um potencial factor no desenvolvimento da gengivo-estomatite crónica (Radford, *et al.*, 2007; Pesavento *et al.*, 2008; ABCD, 2012a). A gengivo-estomatite crónica é uma síndrome multifactorial, em cuja etiologia podem estar envolvidos vários agentes infecciosos como também vários factores inerentes ao hospedeiro (Lyon, 2005; Gaskell *et al.*, 2012; Greene & Marks, 2012).

1.4.4.4. Sinais clínicos

O quadro clínico encontrado pode ser variável, dependendo do tropismo e da virulência da estirpe (Gaskell *et al.*, 2012). O período de incubação da infecção é de 2 a 6 dias (Sykes, 2013b). A maioria das estirpes induz um quadro clínico ligeiro, tipicamente caracterizado por pirexia, ulceração oral e sinais do tracto respiratório superior e conjuntivais ligeiros (Gaskell *et al.*, 2012). A ulceração oral é o sinal clínico mais característico da infecção e pode ser o único sinal presente. Ocorre tipicamente na língua, mas também pode verificar-se no palato, lábios ou nariz. Estes animais podem apresentar hipersalivação e anorexia. Sinais clínicos típicos de doença respiratória do tracto superior, como espirros, conjuntivite e corrimento ocular e nasal também são comuns, embora geralmente menos pronunciados do que na infecção por HVF-1 (Gaskell *et al.*, 2012). O CVF tem sido citado na literatura como causando apenas conjuntivite ligeira (Stiles, 2014). A ulceração de pele ou noutras

localizações podem ocorrer raramente. Algumas estirpes mais virulentas podem causar pneumonia, com dispneia associada (Gaskell *et al.*, 2012).

Outras estirpes de CVF produzem uma síndrome de claudicação transitória e pirexia, que podem ocorrer com ou sem doença oral e respiratória. Estes animais apresentam dor, letargia e anorexia e na maioria dos casos, a resolução clínica ocorre dentro de 24 a 48 horas. Adicionalmente, algumas estirpes podem causar infecções subclínicas (Gaskell *et al.*, 2012).

Gatos afectados por VS-FCV, para além dos sinais clínicos de infecção do tracto respiratório superior, habitualmente graves, apresentam sinais clínicos distintivos que incluem, edema subcutâneo, sobretudo na face e nos membros, alopecia e ulceração no nariz, lábios, região periorbital, pavilhão auricular e almofadinhas plantares. Alguns gatos podem desenvolver icterícia; vômito e/ ou diarreia (devido ao envolvimento do tracto gastrointestinal, incluindo fígado e pâncreas). Os animais também desenvolvem coagulopatias, que se podem manifestar por petéquias, equimoses e, raramente, epistaxis e hematoquécia (Hurley & Sykes, 2003; Gaskell *et al.*, 2012; Sykes, 2013b). Os gatos adultos são frequentemente mais afectados (Gaskell *et al.*, 2012; Sykes, 2013b).

1.4.4.5. Diagnóstico

Quando a conjuntivite é observada em conjunto com sinais clínicos característicos de CVF (ulceração oral), a realização de testes laboratoriais para pesquisa de CVF deve ser considerada (Ramsey, 2000). O diagnóstico confirmatório pode ser realizado a partir de zaragatoas conjuntivais ou orofaríngeas (Gaskell *et al.*, 2012; Stiles, 2014).

1.4.4.5.1. Detecção de antigénio

Devido ao estado de portador, a interpretação de um resultado positivo deve ser feita com cautela e juntamente com o quadro clínico, pois um gato assintomático pode excretar o vírus (Hurley & Sykes, 2003; ABCD, 2012a; Gaskell *et al.*, 2012; Sykes, 2013b).

Tradicionalmente tem sido utilizado o isolamento viral para a detecção do vírus (Richards *et al.*, 2006; Gaskell *et al.*, 2012) e é referido por alguns autores como o teste de diagnóstico mais fiável (Hurley & Sykes, 2003; Sykes, 2013a). Podem ocorrer falsos-negativos, pois a sensibilidade do teste diminui quando os níveis de excreção viral são baixos, o que se pode verificar na fase de recuperação clínica da infecção (Gaskell *et al.*, 2004; Hurley & Sykes, 2003; Sykes, 2013b). O facto de ser uma técnica dispendiosa e de requerer um meio de transporte viral específico faz com que não seja rotineiramente utilizado na prática clínica (Ramsey, 2000).

Para a detecção de RNA de CVF têm sido desenvolvidos RT-PCR. No entanto, em alguns casos este pode ser menos sensível do que o isolamento viral, sobretudo devido à variabilidade das estirpes, ou devido à susceptibilidade de degradação do RNA viral durante

o transporte (Marsilio, Di Martino, Decaro & Buonavoglia, 2005; Gaskell, Dawson & Radford, 2010; ABCD, 2012a). Contudo, o PCR seguido pela sequenciação permite a diferenciação entre as estirpes de CVF, o que é útil no estudo epidemiológico da doença, nomeadamente na diferenciação entre as estirpes infectantes e as vacinais (Sykes *et al.*, 2001; Richards *et al.*, 2006; Gaskell *et al.*, 2012).

Mais raramente, os testes de imunofluorescência podem ser realizados em amostras citológicas ou em amostras de tecidos, mas trata-se de um método menos sensível do que o isolamento viral ou PCR (Marsilio *et al.*, 2005; Hurley & Sykes, 2003; Sykes, 2013b).

1.4.4.5.2. Detecção de anticorpo

A serologia não é útil para o diagnóstico de infecção, devido à elevada seroprevalência resultante da exposição da população felina ao vírus ou da vacinação (Ramsey, 2000; ABCD, 2012a; Sykes, 2013b).

1.4.4.6. Tratamento

A terapêutica de suporte e a antibioterapia de largo espectro constituem a base do tratamento da infecção por CVF (Gaskell *et al.*, 2010). Actualmente, não existe nenhum fármaco antiviral disponível para o tratamento do CVF (ABCD, 2012a). Como o CVF é um vírus RNA, os agentes antivirais oftálmicos disponíveis para o tratamento do HVF-1, um vírus DNA, não são eficazes (Stiles, 2012). A ribavirina demonstrou ser eficaz contra o vírus *in vitro*, mas possui elevada toxicidade para o gato, o que impede a sua utilização (Gaskell *et al.*, 2012). Alguns clínicos recorrem ao IFN (Radford *et al.*, 2007). Estudos mostraram que o rHuIFN- α e o rFeIFN- ω f reduzem a replicação *in vitro* do CVF, contudo, não existem estudos controlados *in vivo* (Hartmann, 2008; ABCD, 2012a; Hartmann, 2012).

A antibioterapia de largo espectro está indicada nos casos mais graves de doença oral e/ ou respiratória e de suspeita de infecção bacteriana secundária (Radford *et al.*, 2007; ABCD, 2012a; Sykes, 2013b). Pode ser utilizada amoxicilina com ácido clavulânico, doxiciclina ou azitromicina (Ruch-Gallie, Veir, Spindel & Lappin, 2008; Lister, Wu & Constable, 2012). Se a administração oral for difícil, pode ser administrada cefovecina por via subcutânea (SC) (Radford *et al.*, 2007; Lister *et al.*, 2012). Pode ser utilizado um antibiótico tópico se se suspeitar de conjuntivite causada por infecção bacteriana secundária (Crispin, 2002a; Stiles, 2012).

O suporte nutricional e a manutenção da hidratação são essenciais. A estimulação da alimentação é muito importante (Radford *et al.*, 2007; ABCD, 2012a). Os casos mais graves podem necessitar de hospitalização e fluidoterapia. Quando a anorexia é prolongada, pode ser indicada a colocação de um tubo de esofagostomia ou de gastrotomia. De igual forma, também é essencial a limpeza regular dos corrimentos nasais e oculares. Os fármacos mucolíticos (por exemplo, cloridrato de bromexina) podem ajudar a limpar as vias aéreas na

fase mais crónica e a nebulização com soro fisiológico também podem ser benéfica (Ramsey, 2000; ABCD, 2012a; Gaskell *et al.*, 2012).

O prognóstico para a resolução da conjuntivite causada por CVF é geralmente bom (Stiles, 2014).

1.4.4.7. Prevenção e controlo

A vacinação para o CVF é considerada essencial (Day, Horzinek & Schultz, 2010; ABCD, 2012a; Scherk *et al.*, 2013), devido à elevada prevalência e facilidade de transmissão da infecção e porque a doença pode ocasionalmente ser grave (Richards *et al.*, 2006).

Actualmente as vacinas contra o CVF são polivalentes. Existem vacinas vivas atenuadas e vacinas inactivadas com adjuvante, de administração parentérica, e mais recentemente, foi licenciada uma vacina inactivada sem adjuvante na Europa (Radford *et al.*, 2006; ABCD, 2012a; Gaskell *et al.*, 2012). Estas vacinas são eficazes na redução ou prevenção dos sinais clínicos, mas não previnem a infecção ou o desenvolvimento do estado de portador (Richards *et al.*, 2006; Radford *et al.*, 2007; ABCD, 2012a).

As vacinas são maioritariamente monovalentes (estirpes F9 ou 259) ou bivalentes (estirpes 431 e G1) (Radford *et al.*, 2006; Richards *et al.*, 2006; ABCD, 2012a; Gaskell *et al.*, 2012). Existe uma discussão continuada sobre o grau de protecção cruzada conferida por estas vacinas. A maioria destas estirpes parece conferir protecção contra a maior parte das estirpes circulantes. Contudo, devido à diversidade antigénica, as estirpes provavelmente variam no grau de protecção oferecida (Gaskell *et al.*, 2012).

Embora as vacinas vivas atenuadas sejam geralmente seguras, têm sido ocasionalmente associadas ao aparecimento de sinais clínicos e, por vezes, claudicação após a sua administração. A maioria das reacções vacinais resulta da infecção coincidente com uma estirpe de CVF distinta e, só raramente, as estirpes vacinais são isoladas (Radford *et al.*, 2006; Richards *et al.*, 2006; Gaskell *et al.*, 2012).

Os anticorpos maternos podem persistir até às 10 a 14 semanas de idade (ABCD, 2002b). As recomendações para o protocolo de vacinação contra o CVF são idênticas às do HVF-1, já mencionadas (Day *et al.*, 2010; ABCD, 2012a; Scherk *et al.*, 2013).

1.4.5. Conjuntivite bacteriana

A conjuntivite bacteriana primária (excepto no caso da infecção por *C. felis* ou *Mycoplasma* spp.) é rara no gato (Glaze & Gelatt, 1999; Waters & Barnett, 2004). Contudo, pode ocorrer quando existem condições predisponentes que afectam a conjuntiva e possibilitam o sobrecrecimento da microbiota conjuntival, resultando numa infecção oportunista. Pode desenvolver-se uma conjuntivite bacteriana secundariamente a traumas, anomalias palpebrais, à presença de um corpo estranho, a reacções alérgicas ou quando o animal é

exposto a uma situação de *stress* ou está imunodeprimido (Whitley, 2000; Crispin, 2002a; Waters & Barnett, 2004).

Comparativamente ao cão, os gatos têm taxas relativamente mais baixas de isolamento bacteriano no saco conjuntival (Maggs, 2002b; Espínola & Lilenbaum, 1996 citado por Stiles, 2012). São isoladas bactérias a partir do saco conjuntival em 4 a 67% de gatos saudáveis (Gould & Papasouliotis, 2013). A microbiota é composta por uma população mista, predominantemente gram-positiva (Hamor, 2001; Maggs, 2002b; Grahn & Wolfer, 2009). As bactérias gram-positivas predominantemente isoladas incluem: *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp. As bactérias gram-negativas predominantemente isoladas incluem: *Pseudomonas* spp., *C. felis*, *Mycoplasma* spp., *Parachlamydia acanthamoebae* (Gould & Papasouliotis, 2013).

Os sinais clínicos incluem hiperémia conjuntival, corrimento ocular mucoso a mucopurulento, quemose e, em conjuntivites crónicas, presença de folículos linfóides (Whitley, 2000).

O diagnóstico baseia-se no exame oftalmológico e na realização de uma citologia de conjuntiva. A cultura bacteriana e o TSA estão indicados nos casos mais graves, quando não se obtém uma resposta favorável à terapêutica ou nos casos de conjuntivite crónica ou recidivante (Martin, 2010b).

O tratamento envolve a correcção da causa primária e a antibioterapia tópica (Whitley, 2000; Maggs, 2008b). A selecção do antibiótico é habitualmente empírica e pode ser direccionada pelos resultados da citologia conjuntival (Champagne, 2001; Maggs, 2008d; Martin, 2010d). Os antibióticos de largo espectro, incluindo as combinações triplas de antibióticos de neomicina – polimixina B – bacitracina (em Portugal apenas existe a combinação de polimixina B – neomicina), ou o cloranfenicol são adequados para o tratamento empírico da conjuntivite bacteriana (Champagne, 2001; Hamor, 2001; Ghrahn & Wolfer, 2009). Em casos de infecção não complicada, a maioria dos animais demonstra uma resposta rápida e favorável a uma terapêutica de curta duração (7 dias) e as recidivas não são comuns (Maggs, 2008b; Martin, 2010b). Quando isto não se verifica ou a conjuntivite responde apenas temporariamente à antibioterapia tópica, o diagnóstico inicial deve ser questionado pois a etiologia bacteriana é pouco provável (Hamor, 2001; Maggs, 2008b). A terapêutica de suporte consiste na limpeza ocular com colírios para remoção do corrimento ocular (Maggs, 2008b; Martin, 2010b).

1.4.6. Conjuntivite parasitária

A conjuntivite no gato também pode estar associada ao nemátode *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) (Glaze & Gelatt, 1999; Maggs, 2008b; Martin, 2010b). Até à data estão descritos dois casos de telaziose ocular felina em Portugal (Rodrigues, Cardoso, Coutinho, Otranto & Diz-Lopes, 2012; Soares *et al.*, 2013). A *T. callipaeda* pode ser

encontrada sob as pálpebras, membrana nictitante, no saco conjuntival ou nos ductos da glândula lacrimal de cães, gatos e carnívoros silvestres (Rodrigues *et al.*, 2012).

A *T. callipaeda* é transmitida pela *Phortica variegata* (Diptera, Drosophilidae), vulgarmente conhecida como “mosca da fruta”. Este vector, quando se alimenta das secreções lacrimais de um hospedeiro infectado, ingere as larvas L1 depositadas pelas fêmeas adultas de *T. callipaeda*. O mesmo insecto deposita posteriormente as L3 infectantes enquanto se alimenta das secreções oculares de outros hospedeiros (Rodrigues *et al.*, 2012; Pimenta *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2013). A presença destes nemátodes no olho pode causar epífora, conjuntivite, corrimento ocular, blefarospasmo, queratite e úlceras da córnea, possivelmente resultantes da lesão mecânica provocada pela cutícula com estriações transversais proeminentes do parasita (Otranto & Traversa, 2005; Rodrigues *et al.*, 2012).

O diagnóstico depende da visualização directa dos parasitas em animais com sinais clínicos oculares (Pimenta *et al.*, 2013). O tratamento da telaziose ocular inclui a remoção mecânica dos nemátodes sob anestesia local (Maggs, 2008b; Pimenta *et al.*, 2013), seguida pela aplicação de um antibiótico tópico e um anti-inflamatório até resolução da conjuntivite (Stiles, 2013). Adicionalmente, é recomendado o tratamento antiparasitário (Bianciardi & Otranto, 2005). No gato, estão documentadas como eficazes as seguintes opções terapêuticas: aplicação da combinação imidaclopride – moxidectina em *spot-on* (Tosco *et al.*, 2010 citados por Rodrigues *et al.*, 2012) e administração da combinação milbemicina oxima – praziquantel oral (Motta *et al.*, 2012 citados por Rodrigues *et al.*, 2012).

1.4.7. Conjuntivite fúngica

A conjuntivite fúngica é muito rara no gato (Maggs, 2008b; Martin, 2010b), sendo por isso escassamente referida na literatura. A microbiota da conjuntiva também é composta por fungos; estes foram isolados a partir do saco conjuntival de 40% de gatos saudáveis (Gould & Papasouliotis, 2013). Os microrganismos ocasionalmente envolvidos na conjuntivite de origem fúngica são a *Candida* spp. (Pressler, 2012), o *Histoplasma capsulatum* (Brömel & Greene, 2012) e o *Aspergillus* spp. (Maggs, 2008b). O diagnóstico é realizado através da citologia conjuntival e é confirmado por cultura fúngica (Maggs, 2008b; Martin, 2010b). Devem ser consideradas causas de imunossupressão local ou sistémica (Maggs, 2008b). O tratamento deve incluir a administração de fármacos antifúngicos tópicos e sistémicos (Maggs, 2008c). Existem vários antifúngicos, mas a natamicina é o único antifúngico formulado e comercializado para uso oftálmico tópico. No entanto, não está disponível em Portugal. Alternativamente, está descrita na literatura a aplicação tópica de formulações parentéricas de outros antifúngicos, como o miconazole, o fluconazole ou a anfotericina B (Maggs, 2008c; Maggs, 2008d; Martin, 2010b).

1.5. Conjuntivites Não Infecciosas

1.5.1. Queratoconjuntivite eosinofílica felina

A queratoconjuntivite eosinofílica felina (QCE) ou queratoconjuntivite proliferativa é uma doença ainda pouco compreendida (Maggs, 2008c). É uma doença inflamatória crónica, progressiva e infiltrativa que afecta a córnea (Moore, 2005).

1.5.1.1. Etiopatogénese

A etiologia da QCE permanece desconhecida, mas supõe-se que a doença ocorre devido a uma resposta imunomediada a um estímulo antigénico desconhecido (Maggs, 2008c; Spiess, Sapienza & Mayordomo, 2009). De acordo com o tipo de células encontradas na lesão, Prasse e Winston (1996) sugeriram que a patogénese da doença possa ser explicada por reacções de hipersensibilidade tipo I ou IV (Andrew, 2008).

Pensa-se que o HVF-1 possa estar implicado na patogénese da QCE (Nasisse *et al.*, 1998). Deste modo, o papel do vírus nesta condição foi objecto de vários estudos, nos quais o HVF-1 foi detectado em gatos diagnosticados com QCE (Nasisse *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 1996 citado por Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013). Porém, em estudos recentes, foi detectado DNA de HVF-1 em 6% a 49% das córneas e/ou conjuntivas de gatos sem sinais oculares (Nasisse *et al.*, 1998; Burgesser *et al.*, 1999; Townsend *et al.*, 2004; Volovich *et al.*, 2005; Low *et al.*, 2007). O DNA viral detectado pode representar uma infecção viral activa, um vírus latente que permaneceu na córnea ou DNA proveniente de partículas virais remanescentes (Townsend *et al.*, 2004). O papel do HVF-1 na etiopatogénese da QCE permanece, assim, indeterminado (Allgoewer *et al.*, 2001; Andrew, 2001; Spiess *et al.*, 2009; Gould, 2011).

Embora existam semelhanças histológicas, não parece haver relação entre a doença e o complexo granuloma eosinofílico felino. Em animais diagnosticados com QCE, não são encontradas lesões dermatológicas típicas do complexo granuloma eosinofílico (Allgoewer *et al.*, 2001; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013).

1.5.1.2. Apresentação clínica

A QCE foi primeiramente descrita como queratite eosinofílica ou granuloma eosinofílico corneano (Dean & Meunier, 2013). Embora esta doença tipicamente afecte a córnea, existe frequentemente envolvimento da conjuntiva, juntamente com queratite e, ocasionalmente, afecta apenas a conjuntiva. Por vezes, também a terceira pálpebra e as pálpebras estão envolvidas (Allgoewer *et al.*, 2001; Moore, 2005; Maggs, 2008c; Dean & Meunier, 2013). Na opinião de alguns autores, o envolvimento de várias superfícies oculares torna o termo “queratite” demasiado restritivo e, conseqüentemente, foi proposto a utilização do termo queratoconjuntivite (Glaze & Gelatt, 1999; Dean & Meunier, 2013). A terminologia da doença

deriva da sua principal característica, a infiltração de eosinófilos encontrada nas amostras examinadas por citologia e histopatologia (Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013). A doença é diagnosticada numa vasta faixa etária e não existe predisposição rásica (Andrew, 2008).

Clinicamente, a QCE manifesta-se inicialmente por neovascularização superficial perilimbal da córnea. O edema da córnea é característico no bordo da lesão (Moore, 2005; Spiess *et al.*, 2009). À medida que a doença progride, a lesão apresenta-se como uma massa de forma irregular, vascularizada, com infiltrados de cor rosa a esbranquiçada, que formam placas esbranquiçadas na córnea. Geralmente, as lesões têm origem no quadrante nasal temporal superior e no quadrante nasal inferior (Andrew, 2001; Moore, 2005; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013). A conjuntiva bulbar e/ou a membrana nictitante também podem estar afectadas e, em casos mais avançados, toda a superfície da córnea pode estar alterada (Glaze & Gelatt, 1999; Moore, 2005; Andrew, 2008; Maggs, 2008c).

Hiperémia conjuntival e quemose, espessamento e/ou hiperémia da terceira pálpebra, prolapso da terceira pálpebra, blefarospasmo, epífora e corrimento ocular mucoso a mucopurulento são outros dos sinais clínicos que podem ser encontrados (Allgoewer *et al.*, 2001; Moore, 2005). Na maioria dos casos, as lesões são unilaterais mas pode ocorrer envolvimento bilateral (Maggs, 2008c; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013). O envolvimento bilateral tem sido considerado como resultante da progressão da doença (Spiess *et al.*, 2009). Concomitantemente podem ocorrer úlceras da córnea, particularmente no bordo da lesão (Maggs, 2008c; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013). Adicionalmente, Dean e Meunier (2013) sugerem que as úlceras da córnea podem estar presentes previamente ao desenvolvimento da QCE.

1.5.1.3. Diagnóstico

O diagnóstico é baseado na aparência clínica da lesão e confirmado por citologia ou histopatologia de amostras conjuntivais ou corneanas. A citologia revela presença de numerosos eosinófilos e mastócitos. Em gatos saudáveis, não são encontrados normalmente eosinófilos e mastócitos na conjuntiva ou córnea. Consequentemente, a presença de uma destas células inflamatórias, com a típica aparência clínica de infiltração da conjuntiva ou córnea é considerada patognomónica de QCE. Também são identificados, embora menos frequentemente, neutrófilos, linfócitos, células plasmáticas e macrófagos. Prasse e Winston (1996) compararam resultados de citologias e de histopatologias de animais com QCE e encontraram tipos de células semelhantes em ambos os exames (Allgoewer *et al.*, 2001; Andrew, 2008; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013).

1.5.1.4. Tratamento

O tratamento da QCE consiste tipicamente na aplicação de corticosteróides tópicos, tais como o acetato de prednisolona 1% ou a dexametasona 0,1%. A frequência de aplicação inicial deve ser de 3 a 4 vezes por dia, dependendo da gravidade. À medida que a lesão entra em remissão, a frequência de aplicação é reduzida gradualmente até à dose de manutenção necessária para controlar a doença. Geralmente, a terapêutica de manutenção aplicada 1 a 2 vezes por dia é suficiente para evitar recidivas (Stiles, 2013). A resposta inicial ao tratamento é habitualmente favorável, porém, as recidivas são comuns após a descontinuação do tratamento (Moore, 2005; Andrew, 2008; Maggs, 2008c). O tratamento de um olho potencialmente infectado com HVF-1 com corticosteróides tópicos representa um risco (Maggs, 2008c; Gould, 2011). Este dilema levou à procura de tratamentos alternativos, como a ciclosporina tópica (0,2 a 1%) (Andrew, 2008).

Existem poucos estudos sobre o tratamento da QCE com ciclosporina A tópica (Allgoewer *et al.*, 2001; Spiess *et al.*, 2009). Spiess *et al.* (2009) demonstrou que a utilização de ciclosporina A tópica 1,5% é eficaz no controlo da QCE. Embora a lesão tenha melhorado na maioria dos casos, observaram-se recidivas nos meses seguintes. Neste estudo, blefarite foi um dos raros efeitos secundários observado. No outro estudo mencionado (Allgoewer *et al.*, 2001), 3 dos 5 gatos desenvolveram sinais graves de irritação ocular, quemose e hiperémia conjuntival. Porém, não se conseguiu determinar se esta reacção resultou do fármaco. Segundo Stiles (2013), a associação tópica de ciclosporina com um AINE também é eficaz em alguns casos, embora a regressão das lesões seja mais demorada do que com corticosteróides tópicos.

O tratamento com acetato de megestrol também está descrito na bibliografia (Moore, 2005; Maggs, 2008c; Stiles, 2013). (Spiess *et al.*, 2009; Stiles, 2013). Porém, é uma alternativa controversa (Sila & Davidson, 2011), pois possui numerosos efeitos secundários, tais como polifagia, diabetes mellitus, supressão adrenocortical, alterações comportamentais, hiperplasia mamária benigna e neoplasia e, para além disso, pode agravar infecções virais latentes (Plumb, 2011). Devido aos seus potenciais efeitos adversos, a sua utilização não é recomendada como terapêutica de primeira linha (Moore, 2005; Spiess *et al.*, 2009; Dean & Meunier, 2013).

Tal como o papel do HVF-1 na doença, também o papel dos antivirais no tratamento da QCE permanece pouco claro (Stiles, 2013). Embora alguns casos melhorem apenas com tratamento antiviral (Andrew, 2008; Maggs, 2008c), não existem estudos que demonstrem a eficácia dos mesmos no tratamento da QCE (Moore, 2005).

1.5.1.5. Prognóstico

Devido ao carácter crónico da doença, a QCE apenas pode ser controlada, não curada (Spiess *et al.*, 2009). O controlo da doença requer terapêutica de manutenção a longo termo

ou até para toda a vida (Spiess *et al.*, 2009; Stiles, 2013). O período de tempo médio até resolução dos sinais clínicos é de cerca de 2 meses (Dean & Meunier, 2013). O cumprimento da terapêutica prescrita, como também a monitorização da progressão da doença são importantes para uma resposta favorável ao tratamento e para evitar possíveis complicações como, por exemplo, ulceração de córnea (Gray & Morgan, 2008).

1.5.2. Queratoconjuntivite seca

Embora seja rara no gato, é a principal doença do sistema lacrimal nesta espécie (Stiles, 2013). Queratoconjuntivite seca (QCS) é uma alteração quantitativa da película lacrimal précorneal, que resulta da diminuição da produção da porção aquosa (Lim & Cullen, 2005). Resulta em dissecação e inflamação da conjuntiva e córnea, dor ocular, doença progressiva corneana e redução da visão (Giuliano, 2013). Ao contrário do que acontece no cão, no gato as causas da doença ainda estão pouco documentadas e definidas (Martin, 2010c; Giuliano, 2013). Para além disso, no gato os sinais clínicos são mais subtis, o que faz com que não sejam facilmente notados (Martin, 2010c). Talvez pelas razões mencionadas, a QCS está escassamente descrita na literatura consultada e é raramente diagnosticada nesta espécie (Lim *et al.*, 2009).

1.5.2.1. Etiologia

Segundo Ramsey (2010b), a infecção por HVF-1 é a causa mais comum de QCS no gato. A maioria dos casos ocorre secundariamente a blefaroconjuntivite crónica ou recidivante causada por HVF-1 (Stiles, 2013). Experimentalmente, observou-se uma diminuição transitória nos valores do teste de Schirmer. Pensa-se que isto resulta da lesão que o vírus induz nas glândulas lacrimais ou da oclusão dos ductulos lacrimais (Nasisse *et al.*, 1989; Hartley, 2010a; Gould, 2011). Para além disso, o HVF-1 provoca diminuição das células caliciformes da conjuntiva e instabilidade da película lacrimal précorneal em gatos infectados experimentalmente, que persiste para além da aparente resolução clínica. Estas alterações levam a deficiências qualitativas da película lacrimal (Lim *et al.*, 2009; Gould, 2011).

Em contraste com a QCS no cão, nesta espécie ainda não foi identificada uma componente hereditária ou imunomediada (Stiles, 2013). A diminuição da produção lacrimal secundária à administração de fármacos lacrimotóxicos, como as sulfonamidas, ainda não foi descrita no gato (Crispin, 2002c; Stiles, 2013). A anestesia geral e a administração tópica ou sistémica de atropina também reduzem transitoriamente a produção lacrimal (Cullen, Lim & Sykes, 2005; Miller, 2008). A QCS neurogénica pode ocorrer secundariamente a perda de inervação parassimpática das glândulas lacrimais (nervo cranial VI) e em outras alterações neurogénicas, nomeadamente as que envolvam o nervo trigémeo (V) e disautonomia (Glaze & Gelatt, 1999; Miller, 2008). A doença pode estar associada a qualquer trauma que afecte directamente as glândulas, ou que provoque lesão nos nervos responsáveis pela inervação

das mesmas (Crispin, 2002c; Martin, 2010c; Miller, 2008). Gatos com agenesia palpebral também podem evidenciar QCS, devido à ausência de glândulas ou de ductos (Miller, 2008; Ben-Shlomo, 2012).

1.5.2.2. Apresentação clínica

A QCS felina caracteriza-se predominantemente pela presença de conjuntivite e menos frequentemente por queratite (Martin, 2010c). É caracterizada por hiperémia conjuntival e opacidade da córnea difusa moderada, resultante da hiperplasia epitelial. A vascularização e pigmentação da córnea bem como a presença de corrimento ocular, ocorrem raramente nesta espécie. Em casos agudos, pode haver ulceração da córnea (Stiles, 2013).

1.5.2.3. Diagnóstico

O diagnóstico da QCS felina é baseado na presença de sinais clínicos compatíveis e de valores do teste de Schirmer diminuídos (Stiles, 2013). Os resultados do teste de Schirmer podem ser de difícil interpretação no gato, uma vez que o intervalo de valores normais é muito variável. Por outro lado, os resultados podem ser influenciados por situações de *stress*, provavelmente devido ao controlo autónomo da secreção lacrimal e alterações temporárias do fluxo lacrimal. Frequentemente, os resultados são inferiores aos valores médios normais no acto da consulta médica (Maggs, 2008a). Contudo, o teste de Schirmer deve continuar a ser realizado, mas interpretado com cautela (Maggs, 2008a). Resultados inferiores a 5 mm/min., repetidos e consistentes, associados à presença de sinais clínicos típicos são considerados diagnóstico de QCS (Glaze & Gelatt, 1999; Cullen *et al.*, 2005). A possível presença de infecção por HVF-1 deve ser investigada, uma vez que esta é uma causa subjacente comum (Crispin, 2002c).

1.5.2.4. Tratamento

O tratamento da QCS felina é semelhante ao tratamento da QCS canina (Stiles, 2013), excepto nos gatos com infecção por HVF-1, nos quais a utilização de ciclosporina é controversa (Maggs, 2005; Gould, 2011). Os principais objectivos terapêuticos são: tratar a causa subjacente, se for conhecida e se possível; estimular a produção lacrimal, através da utilização de fármacos lacrimoestimulantes; repor e suplementar a película lacrimal précorneal, pela aplicação de lacrimomiméticos e tratar infecções bacterianas secundárias (Maggs, 2002a). Os fármacos lacrimoestimulantes incluem a ciclosporina A, o tracolimus e a pilocarpina (colinérgico) (Grahm & Storey, 2004).

A ciclosporina A tópica é actualmente o fármaco de eleição para o tratamento da QCS canina (Maggs, 2002b; Grahm & Storey, 2004). A sua eficácia e segurança ainda não foram determinadas no gato. No entanto, as complicações oculares são pouco comuns, excepto quando se verifica hipersensibilidade conjuntival (Allgoewer *et al.*, 2001; Grahm & Storey,

2004; Stiles, 2013). A pilocarpina pode ser utilizada para o tratamento da QCS neurogénica (Ghran & Storey, 2004; Miller, 2008). É um agente colinérgico que tem sido utilizado para a estimulação parassimpática da glândula lacrimal (Maggs, 2002b). Quando administrada topicamente, este fármaco é irritante, induzindo uveíte, com miose e hiperémia conjuntival (Maggs, 2002b; Ghran & Storey, 2004). Isto levou à sugestão da administração *off label* por via oral (1 a 2 gotas da solução oftálmica 0,25 a 0,50% dissolvida no alimento) (Maggs, 2002b; Stiles, 2013). O animal deve ser monitorizado para possíveis efeitos sistémicos de toxicidade, tais como vômito, hipersalivação e diarreia (Maggs, 2008d). O tratamento de suporte é assegurado pela aplicação de lágrimas artificiais quando necessário (4 a 6 vezes por dia) e aplicação de antibióticos tópicos para prevenir a infecção bacteriana (Stiles, 2013). A transposição do ducto parotídeo está reservada para os casos em que o tratamento médico não é bem-sucedido ou é impraticável (Crispin, 2002a; Maggs, 2002b; Stiles, 2013). De notar que esta técnica cirúrgica raramente elimina a necessidade de se continuar com o tratamento tópico (Miller, 2008).

Segundo Ramsey (2010b), a maioria dos gatos com QCS devido à infecção por HVF-1 não desenvolvem QCS permanente ou de duração prolongada. Quando o vírus entra em latência, normalmente a produção lacrimal melhora e os sinais clínicos resolvem. O tratamento de suporte está indicado durante a fase activa da infecção.

1.5.2.5. Prognóstico

O prognóstico da QCS felina aguda que ocorre secundariamente à infecção por HVF-1 é normalmente bom. Pelo contrário, o prognóstico da QCS crónica ou complicada, com queratite estromal ou ulceração de córnea recidivante atribuída ao HVF-1 é geralmente reservado (Ramsey, 2010b).

1.5.3. Conjuntivite lipogranulomatosa

Esta forma de conjuntivite foi descrita no gato (Read & Lucas, 2001; Kerlin & Dubielzig, 1997). É uma doença ainda pouco compreendida, que afecta gatos entre os 6 e os 16 anos, com uma média de 11 anos. As lesões são não-ulcerativas e correspondem a nódulos brancos conjuntivais únicos ou multifocais. As lesões localizam-se na conjuntiva palpebral adjacente à margem palpebral e geralmente são bilaterais. É mais frequente o envolvimento da pálpebra superior do que da pálpebra inferior. A maioria dos animais apresenta sinais de irritação ocular, manifestada por blefarospasmo e corrimento ocular (Read & Lucas, 2001).

Histopatologicamente observa-se inflamação granulomatosa com presença de gotículas lipídicas. A origem do material lipídico ainda não foi identificada. No entanto, pensa-se que a conjuntivite lipogranulomatosa está associada à lesão ou ruptura das glândulas de Meibomius, com reacção inflamatória às secreções sebáceas que são libertadas para o tecido subjacente, e que pode representar uma forma de calázio (Read & Lucas, 2001).

Read e Lucas (2001) sugerem que a radiação solar ultravioleta pode desempenhar um papel na patogénese da lesão das glândulas de Meibomius, uma vez que a doença ocorre predominantemente em animais com pouca ou nenhuma pigmentação palpebral e em animais com idades entre os 6 e os 16 anos. Para além disso, o facto de ser mais comum em gatos de pelagem branca e de, por vezes, ocorrer em associação com carcinoma das células escamosas também pode estar relacionado com a radiação actínica (Read & Lucas, 2001; Maggs, 2008b).

O tratamento pode ser cirúrgico, médico ou conservativo. A excisão cirúrgica das lesões tem sido recomendada quando as lesões parecem estar na origem da irritação ocular e demonstrou ser curativa. Num estudo com 13 gatos foi realizada a excisão da lesão em 8 casos, com resolução dos sinais de irritação ocular associada e sem recidivas durante o período de seguimento de 4 a 21 meses. A excisão de uma grande parte do tecido glandular das glândulas de Meibomius pode levar a problemas inerentes à inadequada componente lipídica da película lacrimal précorneal. O tratamento médico com antibiótico tópico parece reduzir a irritação ocular, embora não a elimine. Esta é uma alternativa ao tratamento cirúrgico, quando este não é possível (Read & Lucas, 2001).

1.5.4. Conjuntivite alérgica

A conjuntivite alérgica, acompanhada ou não de blefarite alérgica, é uma causa pouco comum de conjuntivite no gato (Hendrix, 2009; Maggs, 2011). A conjuntivite alérgica pode ocorrer após exposição da conjuntiva a antigénios, resultante de contacto directo com agentes veiculados pelo ar ou agentes aplicados topicamente, inalação ou ingestão e pode ser observada concomitantemente com sinais de resposta alérgica (Maggs, 2008b). No gato, surge mais frequentemente como resultado de uma reacção de hipersensibilidade a fármacos aplicados topicamente, como por exemplo, tetraciclina, neomicina, idoxuridina e trifluridina (Glaze & Gellat, 1999; Crispin, 2005). O aumento da irritação ocular após a aplicação de um medicamento oftálmico no olho pode ser indicativo de uma hipersensibilidade ao fármaco (Martin, 2010b). Os sinais clínicos podem incluir: hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular seroso a mucoso e eritema periocular. A inflamação concomitante da pele, cavidade nasal, faringe e pavilhão auricular pode estar presente (Maggs, 2008b). Geralmente a conjuntivite é bilateral, excepto nos casos de hipersensibilidade tópica medicamentosa (Maggs, 2011). Nestes casos, os animais possuem uma história de conjuntivite que não responde à medicação tópica (Hendrix, 2013). O exame citológico pode revelar a presença de eosinófilos e frequentemente, linfócitos e células plasmáticas (Hendrix, 2013). O tratamento consiste em evitar o contacto com o alergénio, se conhecido e se possível (Crispin, 2005; Martin, 2010b). Podem ser administrados corticosteróides tópicos para aliviar os sinais clínicos (Maggs, 2008b). No entanto, a maioria dos casos resolvem 12 a 48 horas após a remoção do alergénio (Crispin,

2005). Outras alternativas incluem a ciclosporina tópica, os AINEs tópicos, os anti-histamínicos e os estabilizadores dos mastócitos (Maggs, 2008b; Maggs, 2011). Os dois últimos são comumente utilizados nos humanos, mas não existem estudos controlados sobre a sua segurança e eficácia em Medicina Veterinária (Maggs, 2008b). Se se suspeitar de hipersensibilidade medicamentosa, deve-se suspender a administração do fármaco (Hendrix, 2013).

2. OBJECTIVOS

Os objectivos deste trabalho são contribuir para a caracterização das conjuntivites felinas na população em estudo de 54 gatos. Pretende-se estudar os principais agentes patogénicos da conjuntiva, o herpesvírus felino-1 e a *Chlamydophila felis*, mas também o *Mycoplasma felis* e o calicivírus felino. São analisados os parâmetros raça, género, idade, estado vacinal, tipo de vida, testes de FIV e FeLV, sinais clínicos oculares e do tracto respiratório superior, resultados dos testes de diagnóstico realizados e tratamento prescrito nos animais afectados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População em estudo

Foram incluídos neste estudo retrospectivo 54 gatos com conjuntivite, que se apresentaram à consulta de Oftalmologia no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), no período compreendido entre Janeiro de 2010 e Junho de 2013. As fichas clínicas destes animais foram avaliadas de forma sistemática. Foi necessário avaliar casos clínicos durante um período de tempo superior à duração do estágio curricular, pois as dimensões iniciais da população a estudar revelaram-se insuficientes.

Todos os animais foram avaliados pelo mesmo Médico Veterinário, responsável pelo Serviço de Oftalmologia. Os animais que se apresentaram à consulta realizaram um exame oftalmológico completo que incluiu: avaliação neurooftalmológica, realização do teste de Schirmer, realização do teste de fluoresceína e do teste de Rosa Bengala, tonometria por aplanção, exame com biomicroscópio, oftalmoscopia directa ou indirecta.

Os dados recolhidos incluíram raça, género, idade, estado vacinal, tipo de vida, testes de FIV e FeLV, sinais clínicos oculares e do tracto respiratório superior, resultados dos testes de diagnóstico realizados e tratamento prescrito. De acordo com o estudo de Sykes *et al.* (1999b), a idade foi dividida em 6 grupos etários: < 2 meses, 2 – 6 meses, 7 – 11 meses, 1 – < 5 anos, 5 – 10 anos, > 10 anos. O termo vacinado refere-se à vacinação realizada até 1 ano antes da consulta, com vacinas contra HVF-1, CVF e também *C. felis*. Os sinais clínicos relacionados com o tracto respiratório superior podem incluir espirros e corrimento nasal.

Os sinais clínicos de conjuntivite incluíram hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular seroso a mucopurulento, ou qualquer combinação destes, e com graus variáveis de gravidade.

Os exames complementares de diagnóstico foram realizados sempre que necessário e quando tal foi permitido pelos proprietários dos animais. Os testes de diagnóstico realizados incluíram o exame citológico de amostras conjuntivais e testes de PCR para detecção de herpesvírus felino tipo 1 (PCR *real-time*, laboratório Idexx, Espanha; PCR *real-time*, laboratório Dnatech, Lisboa) ou *Chlamydophila felis* (PCR *real-time*, laboratório Idexx,

Espanha; PCR *real-time*, laboratório Dnatech, Lisboa) ou pesquisa de HVF-1, *Chlamydomphila felis* e *Mycoplasma felis* (painel ocular felino: PCR *real-time*, laboratório Idexx, Espanha) ou pesquisa de HVF-1, *Chlamydomphila felis*, *Mycoplasma felis* e CVF (painel respiratório felino: PCR *real-time*, laboratório Idexx, Espanha).

3.2. Colheita de amostras

A colheita de amostras conjuntivais para PCR (n=31) foi efectuada por esfregaço com uma zaragatoa estéril no fundo de saco conjuntival inferior, no início do exame oftalmológico, após a realização do teste de Schirmer. As amostras foram colocadas em tubos estéreis e mantidas sob refrigeração no laboratório interno do HVR. Posteriormente, as amostras foram enviadas, por norma no espaço de 24 horas, para realização dos testes de PCR em laboratório comercial. Da totalidade de 31 amostras conjuntivais, foi realizado PCR para detecção de HVF-1 em 31 amostras, para detecção de *Chlamydomphila felis* em 21 amostras, para detecção de *Mycoplasma felis* em 7 amostras e para detecção de CVF também em 7 amostras.

A colheita de amostras conjuntivais para realização de citologia conjuntival foi realizada após realização de anestesia tópica ocular (n=28) (oxibuprocaína; Anestocil®, Laboratório Edol, Lisboa, Portugal). As amostras foram obtidas através do método de esfoliação, por meio de uma escova de citologia estéril (*Cytobrush plus*®, CooperSurgical, Lisboa, Portugal). A escova de citologia foi deslizada gentilmente sobre a conjuntiva palpebral inferior. O material colhido foi seguidamente transferido para uma lâmina de vidro e, após secagem ao ar, a lâmina foi corada com o corante Giemsa e examinada pelo Médico Veterinário responsável pelo Laboratório Interno do HVR.

3.3. Análise estatística

Foi criada uma base de dados no programa informático *Microsoft® Office Excel* 365, onde foram introduzidos os dados recolhidos dos 54 gatos e realizada a análise exploratória dos dados. Para o estudo das diferentes variáveis foram utilizados métodos de estatística descritiva.

A estatística inferencial foi realizada no programa informático R® versão 3.0.2. para o *Windows*. Para identificar possíveis associações estatísticas entre variáveis categóricas foi utilizado o teste exacto de Fisher. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Foram investigadas as seguintes variáveis e a ocorrência de infecção por HVF-1: um factor de risco associado ao ambiente, o tipo de vida; a presença de sinais associados ao tracto respiratório superior e a presença de queratite.

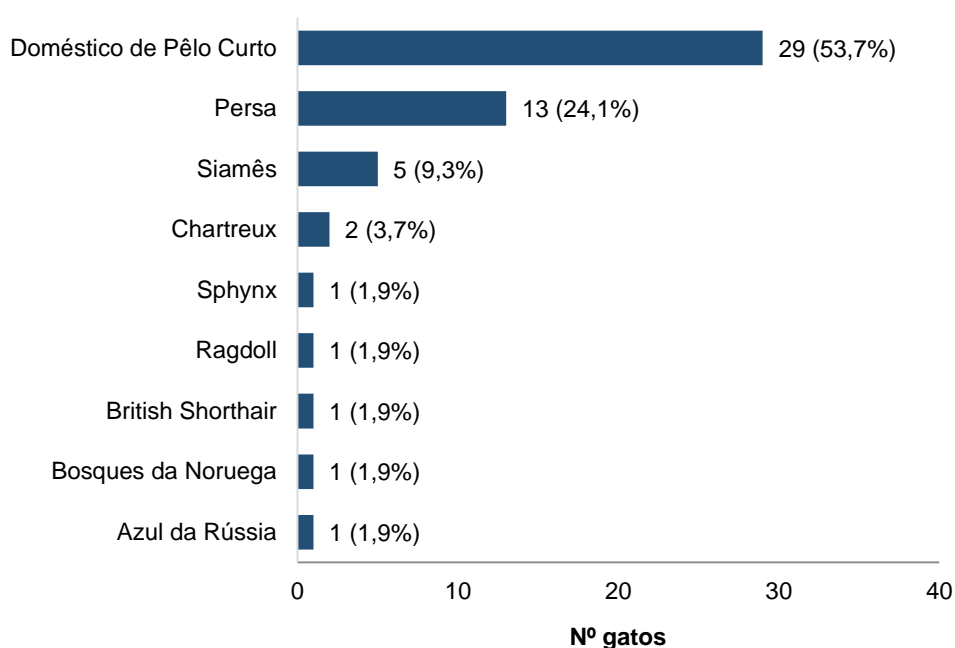
4. RESULTADOS

4.1. Caracterização da população em estudo

4.1.1. Raça

Na população em estudo, a raça mais frequente foi o gato Doméstico de Pêlo Curto (DPC) (29/54 gatos; 53,7%), seguida da Persa (13/54 gatos; 24,1%) e da Siamesa (5/54 gatos; 9,3%). As outras raças representadas incluíram Chartreux (2/54 gatos; 3,7%), Sphynx, Ragdoll, British Shorthair, Bosques da Noruega e Azul da Rússia (cada uma: 1/54 gatos; 1,9%), raças puras menos comuns (Gráfico 1).

Gráfico 1. Distribuição da raça nos gatos com conjuntivite (n=54).



4.1.2. Género

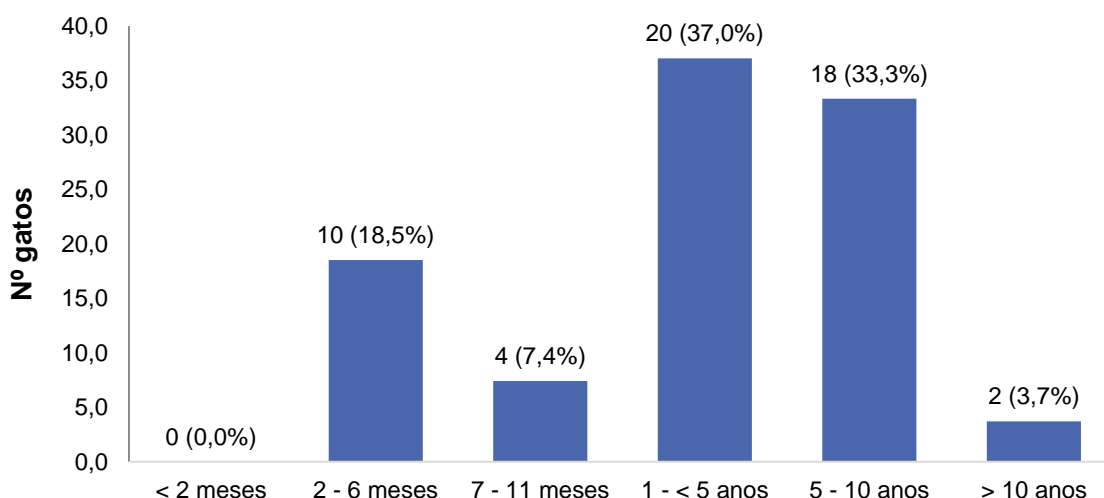
Relativamente ao género, 33 gatos pertenciam ao género masculino (61,1%) e 21 pertenciam ao género feminino (38,9%), verificando-se uma ligeira sobre-representação de machos. Destes, 24 dos machos estavam orquidectomizados (24/33; 72,7%) e 12 das fêmeas estavam ovariectomizadas (12/21; 57,1%).

4.1.3. Idade

A idade dos gatos afectados variou entre os 2,4 meses e os 12 anos, com uma média de idades de 4 anos ($3,9 \pm 3,5$ anos). Quando os gatos foram distribuídos com base em diferentes grupos etários, a maioria pertencia ao grupo etário entre 1 aos <5 anos de idade (20/54; 37,0%) e ao grupo etário dos 5 aos 10 anos de idade (18/54; 33,3%). Apenas 2 gatos (3,7%) tinham mais de 10 anos. Os restantes animais tinham menos de 1 ano de

idade, com 10 gatos (18,5%) com idades compreendidas entre os 2 e os 6 meses de idade (Gráfico 2).

Gráfico 2. Distribuição da idade na população em estudo (n=54).



4.1.4. Vacinação

Sabe-se que 14 dos gatos da população em estudo estavam vacinados contra HVF-1 e CVF. Destes, 11 também foram vacinados com a componente vacinal contra a *C. felis*. Nos restantes gatos, não existe história de vacinação prévia, desconhecendo-se o seu estado vacinal.

4.1.5. Habitat

A maioria dos gatos (43/54; 79,6%) tinha um tipo de vida interior (*indoor*), ou seja, eram gatos que viviam exclusivamente no interior de uma habitação. Destes, 11 gatos (11/54; 20,4%) possuíam um tipo de vida interior e exterior (*indoor/ outdoor*), isto é, vivem no interior de uma habitação e possuem acesso ao exterior e 4 gatos (4/11) estavam vacinados.

4.1.6. Infecção por FIV ou por FeLV

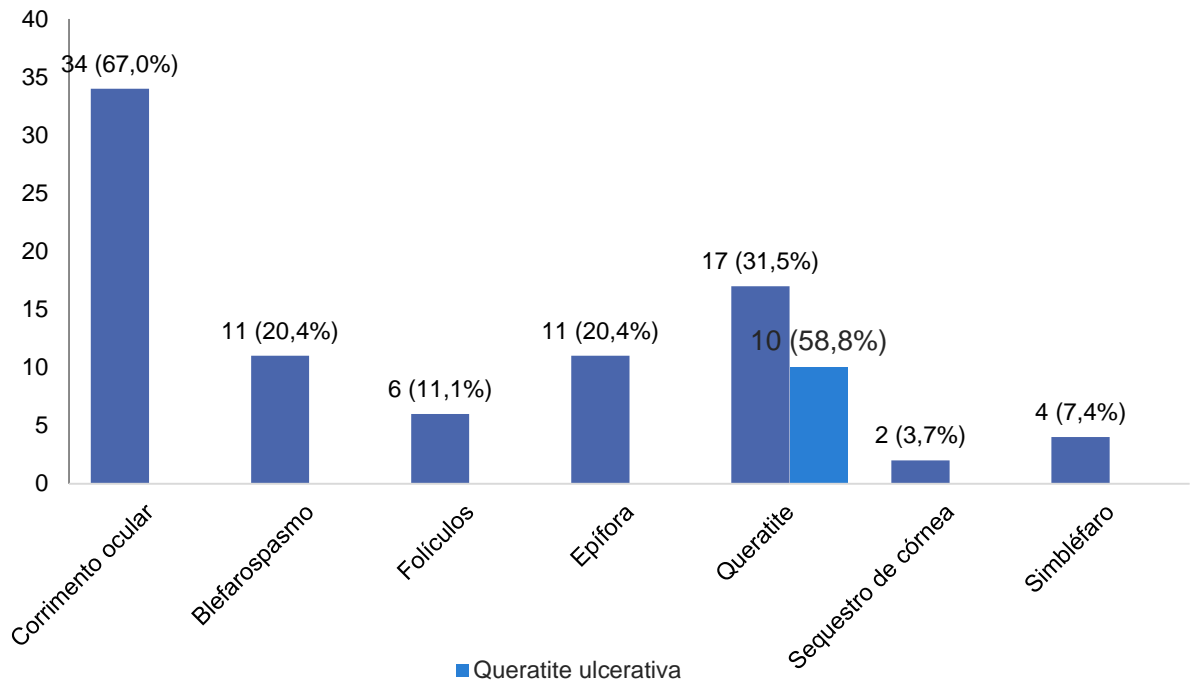
Na amostra em estudo 24 gatos realizaram testes rápidos para pesquisa de infecção por FIV e por FeLV: 3 gatos foram positivos a FeLV (3/24) e 1 gato foi positivo a FIV (1/24).

4.2. Sinais clínicos

4.2.1. Sinais oculares

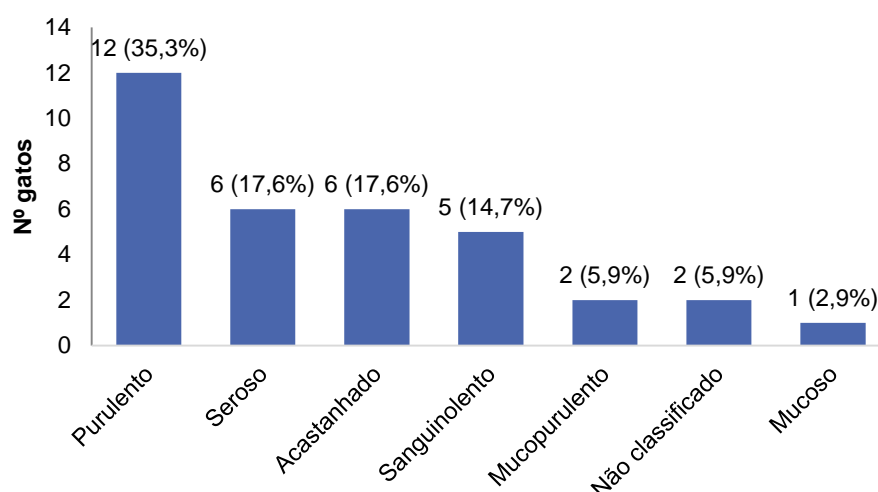
Dos 54 gatos com conjuntivite activa 15 tinham história prévia de conjuntivite (27,8%). O envolvimento ocular era unilateral em 37,0% dos casos (20/54) e bilateral em 63% dos gatos (34/54).

Gráfico 3. Sinais clínicos oculares encontrados nos gatos com conjuntivite (n=54).



Adicionalmente aos sinais de conjuntivite, 34 gatos tinham corrimento ocular (67,0%), 11 evidenciavam blefarospasmo (20,4%) e 6 possuíam foliculos linfóides (11,1%) (Gráfico 3). Como se pode verificar no gráfico 4, os tipos de corrimento ocular encontrados foram, por ordem decrescente, purulento (12/34; 35,3%), seroso (6/34; 17,6%), acastanhado (6/34; 17,6%), sanguinolento (5/34; 14,7%), mucopurulento (2/34; 5,9%), não classificado (2/34; 5,9%) e mucoso (1/34; 2,9%). Dos 54 gatos com conjuntivite, 17 também tinham envolvimento da córnea. Destes, 17 gatos apresentavam queratite (31,5%), dos quais 10 animais apresentavam queratite ulcerativa (58,8%). Adicionalmente 2 gatos (3,7%) tinham sequestro de córnea, ambos da raça Persa. O simbléfaro foi diagnosticado em 4 gatos (7,4%), com idades compreendidas entre os 3,5 meses e os 11,8 anos de idade. Outros sinais clínicos observados incluíram a epífora (11/54; 20,4%) (Gráfico 3).

Gráfico 4. Classificação do corrimento ocular (n=34).



4.2.2. Sinais do tracto respiratório superior

Quinze dos gatos com conjuntivite tinham sinais associados ao tracto respiratório superior (15/54; 27,8%), tais como espirros ou corrimento nasal. Destes, 4 gatos tinham queratoconjuntivite concomitante à sintomatologia respiratória.

4.3. Métodos de diagnóstico laboratorial

Estes incluíram a citologia conjuntival e o PCR. Estes testes são frequentemente realizados em simultâneo, embora o factor monetário seja frequentemente um condicionante.

4.3.1. Resultados do PCR *real-time*

O HVF-1 e a *Chlamydomphila felis* foram os agentes infecciosos mais pesquisados: 31 amostras conjuntivais foram submetidas para PCR de HVF-1 e 21 amostras para PCR de *C. felis*.

O *Mycoplasma felis* e o CVF também foram pesquisados como parte integrante de painéis de PCR disponibilizados por laboratórios comerciais. O PCR foi realizado num total de 31 gatos (31/54; 57,4%).

Apenas 7 dos gatos realizaram só PCR, tendo sido realizado este método de diagnóstico em simultâneo com a citologia conjuntival nos restantes animais (24/31).

Na tabela 3 pode verificar-se que o HVF-1 foi detectado em 10 dos 31 gatos testados (32,3%). A *C. felis* foi detectada em 3 dos 21 gatos (14,3%). O *Mycoplasma felis* e o CVF não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas. De igual forma, não foi encontrada nenhuma co-infecção por quaisquer destes agentes.

Tabela 3. Frequência de gatos positivos a HVF-1, *C. felis*, *M. felis* e CVF por PCR *real-time*.

	HVF-1	<i>Chlamydophila felis</i>	<i>Mycoplasma felis</i>	CVF
Nº	10/31	3/21	0/7	0/7
%	32,3%	14,3%	0%	0%

4.3.2. Resultados da citologia conjuntival

O exame citológico foi realizado em 28 dos gatos (28/54; 51,9%). A citologia foi realizada em conjunto com o PCR na quase totalidade dos casos (24/28).

Os achados citológicos encontrados nos gatos com conjuntivite estão apresentados na tabela 4. De acordo com a classificação citológica, o tipo de conjuntivite predominante foi a conjuntivite neutrofílica (n=18) e 2 amostras citológicas foram classificadas como conjuntivite linfocítica-plasmocítica. Foi visualizada hiperplasia conjuntival em 3 gatos. Em 5 amostras citológicas foram encontradas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* (5/28; 17,9%). As inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* são observadas como aglomerados basofílicos de corpos elementares cocóides nas células epiteliais (Hillström *et al.*, 2013). Não foram encontrados corpos de inclusão de *Mycoplasma* spp. Os corpos de inclusão intranucleares de HVF-1 também não foram encontrados. A conjuntivite bacteriana estava presente em 2 amostras. Cinco das amostras citológicas colhidas não tinham alterações conjuntivais, apresentando características normais.

Tabela 4. Resultados do exame citológico conjuntival nos gatos com conjuntivite.

	Nº
Inflamação neutrofílica	18
Inflamação linfocítica-plasmocítica	2
Presença de eosinófilos e mastócitos	0
Hiperplasia conjuntival	3
Conjuntivite bacteriana ^a	2
Inclusões intracitoplasmáticas de <i>Chlamydophila felis</i>	5
Inclusões de <i>Mycoplasma</i> spp.	0
Inclusões intranucleares de HVF-1	0
Citologia normal de conjuntiva	5

^a Conjuntivite por infecção bacteriana, excepto por *C. felis* e por *Mycoplasma* spp.

4.3.3. Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR

A citologia conjuntival e a pesquisa de *C. felis* através de PCR apenas foram realizadas em 15 gatos. Neste grupo (n=15), foram visualizadas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* em apenas 3 gatos. Pode verificar-se que houve concordância entre os gatos PCR-positivos a *C. felis* e os resultados da citologia conjuntival. Destes 2 gatos, um foi negativo a HVF-1 e a *Mycoplasma felis* e o outro animal foi negativo a HVF-1. Foram observadas inclusões intracitoplasmáticas compatíveis com *C. felis* num gato PCR- negativo a *C. felis*. Este gato também foi PCR-negativo aos outros três agentes pesquisados. Nos restantes gatos negativos a *C. felis* por PCR, não foram encontradas inclusões de *C. felis* (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR *real-time*.

Diagnóstico de <i>C. felis</i> por PCR e por exame citológico				
		Citologia		N
		+	-	
PCR	+	2	0	2
	-	1	12	13
	n	3	12	15

4.4. Tratamento

O tratamento instituído nos vários casos incluiu antivirais tópicos (ganciclovir) (n=37), antivirais orais (famciclovir) (n=5), rHuIFN- α tópico (n=15), rHuIFN- α oral (n=5), lisina oral (n=34), antibióticos tópicos (n=46), antibióticos PO (n=17), AINEs tópicos (flurbiprofeno) (n=4), ciclosporina tópica (n=2), corticosteróides tópicos (n=1), anti-histamínico tópico (n=1), lágrimas artificiais (n=3) e fármacos midríaticos e ciclopégicos (anticolinérgicos) tópicos (tropicamida 1%) (n=2).

4.5. Características associadas aos gatos PCR-positivos a HVF-1 (n=10)

A maior proporção de gatos positivos a HVF-1 foi observada nos gatos de raça Doméstico de Pêlo Curto (6/10; 60%), seguida pela raça Persa (2/10; 20%), Sphynx (1/10; 10%) e Ragdoll (1/10; 10%).

Observou-se que a infecção foi mais frequente nos machos (8/10) do que nas fêmeas (2/10).

A média das idades dos gatos infectados por HVF-1 foi de 2,8 anos ($2,8 \pm 2,5$ anos), tendo variado entre os 2,4 meses e os 8 anos de idade. A distribuição etária revelou um maior número de casos no grupo etário dos 1 - <5 anos (6/10), seguido pelas faixas etárias dos 2-6 meses (2/10), 7-11 meses (1/10) e 5-10 anos (1/10).

Sete dos gatos tinham um estilo de vida sem acesso ao exterior e 3 gatos tinham um estilo de vida com acesso ao exterior. Dos 3 gatos que tinham acesso ao exterior, apenas 1 tinha

história de vacinação. No geral, o HVF-1 foi detectado principalmente em gatos sem história de vacinação prévia (7/10), sabendo-se que os outros 3 gatos estavam vacinados. Dos gatos com diagnóstico positivo a HVF-1, nenhum dos gatos testados para FIV e FeLV (6/10) tiveram resultados positivos.

Quatro gatos tinham história clínica de conjuntivite. Os sinais clínicos oculares eram bilaterais na maioria dos casos (n=8), verificando-se um envolvimento ocular unilateral em 2 casos. Para além da conjuntivite, os sinais clínicos oculares associados à infecção por HVF-1 predominantes incluíram corrimento ocular (n=6), queratite (n=3), sendo que 1 animal apresentava queratite ulcerativa e epífora (n=2) (Gráfico 5). Na tabela 6 verifica-se que os tipos de corrimento ocular observados incluíram seroso (n=2), purulento (n=1), sanguinolento (n=1) e acastanhado (n=1) (Tabela 8). Outros sinais oculares observados incluíram presença de folículos (n=1) e simbléfaro (n=1). O sequestro de córnea não foi encontrado em nenhum dos casos (Gráfico 8).

Gráfico 5. Sinais clínicos oculares associados à infecção por HVF-1 (n=10).

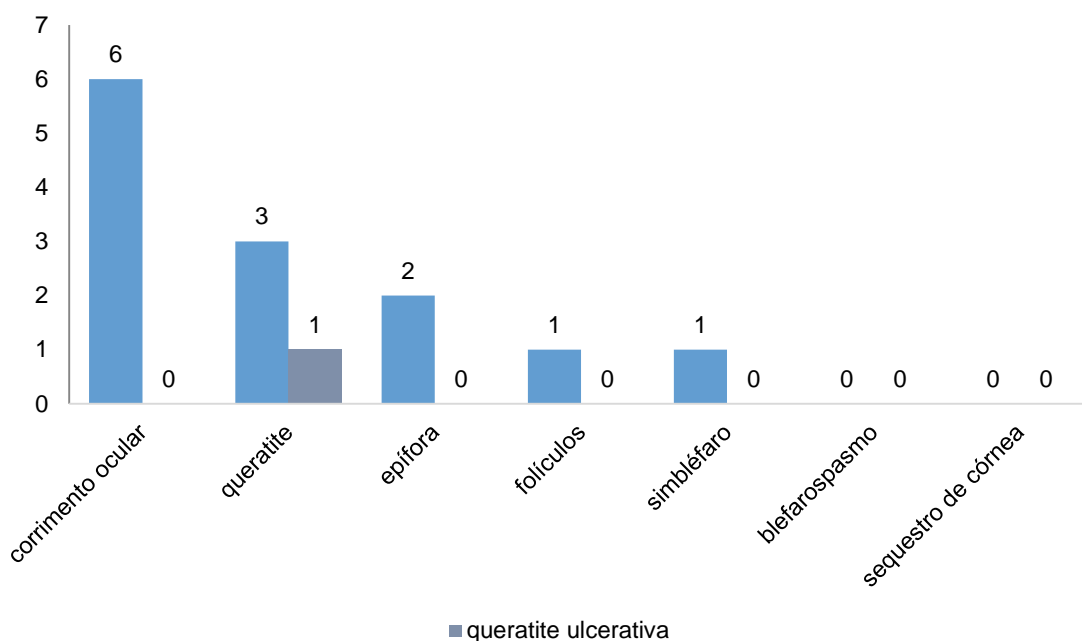


Tabela 6. Classificação do corrimento ocular (n=6).

Corrimento ocular	Nº
Seroso	2
Purulento	1
Sanguinolento	1
Acastanhado	1
Não classificado	1

Quando os gatos PCR-positivos foram comparados com os gatos PCR-negativos, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre a presença de sinais associados ao tracto respiratório superior e a detecção de HVF-1 (Anexo 1). Observou-se assim uma correlação negativa entre a presença de sinais do tracto respiratório superior e a ocorrência de infecção por HVF-1. Os sinais associados ao tracto respiratório superior estavam presentes em 6 gatos.

Neste grupo (n=10), 8 gatos realizaram citologia conjuntival e verificou-se 1 caso em que foram visualizadas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* no exame citológico. No entanto, não foi realizado PCR para detecção deste agente patogénico e, portanto, desconhece-se se se trata de um caso de co-infecção por HVF-1 e *C. felis*. Relativamente às restantes citologias, 4 foram classificadas como conjuntivite neutrofílica, 1 como conjuntivite linfocítica-plasmocítica e 2 como citologias normais de conjuntiva.

4.6. Características associadas aos gatos PCR-positivos a *Chlamydophila felis* (n=3)

Os 3 gatos infectados por *C. felis* eram machos, 2 da raça DPC e 1 Persa. Todos tinham idades compreendidas entre os 3 meses e os 3 anos de idade. Um gato pertencia ao grupo etário dos 2-6 meses de idade, outro pertencia ao grupo etário dos 7-11 meses e outro ao grupo dos 1-<5 anos.

Relativamente ao tipo de vida, apenas 1 tinha acesso ao exterior. Este gato encontrava-se vacinado, incluindo a componente contra a *C. felis*. Um gato estava infectado com FeLV.

Nenhum dos animais infectados com *C. felis* apresentava história clínica de conjuntivite; 2 gatos apresentavam sintomatologia ocular unilateral, enquanto o outro gato apresentava envolvimento bilateral.

O corrimento ocular foi observado em todos os gatos: 2 exibiam corrimento ocular do tipo purulento e noutro o corrimento não foi classificado. O simbléfaro, queratite e epífora não foram observados. Os sinais associados ao tracto respiratório superior estavam presentes em 2 gatos.

O número de gatos infectados por *C. felis* (3/21) não é suficiente para serem investigados potenciais factores de risco ou para avaliar a associação entre a presença de sinais clínicos e a detecção de *C. felis*.

A inflamação neutrofílica foi detectada em todos os gatos PCR-positivos a *C. felis* (que realizaram citologia, n=2).

Foram visualizadas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* em 2 amostras citológicas (2/5 casos) em que não foi realizado PCR, não sendo possível confirmar ou não a presença deste agente patogénico.

5. DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da população em estudo

Neste grupo, a frequência relativamente elevada de gatos de raça DPC reflecte provavelmente o facto de existir uma elevada proporção de gatos desta raça na população felina de Portugal.

Relativamente ao género, verifica-se uma ligeira sobre-representação dos machos, que se deve possivelmente ao acaso, uma vez que das etiologias de conjuntivite estudadas não está descrita na bibliografia nenhuma predisposição de género (Sykes, 2005; Gaskell *et al.*, 2012; Greene & Chalker, 2012; Stiles, 2013).

Considerando a média de idades dos gatos deste grupo (4 anos) e os grupos etários mais representados (1 – <5 anos (37,0%) e 5-10 anos (33,3%)), podemos caracterizar estes animais como gatos jovens adultos a adultos. Os casos de conjuntivites de origem infecciosa no gato adulto são sobretudo crónicos ou recidivantes (Stiles, 2003; Sykes & Greene, 2012). Para além disso, todos os gatos desta população apresentaram-se à consulta de Oftalmologia. É frequente os gatinhos com sinais clínicos oculares e/ou do tracto respiratório superior agudos, compatíveis com coriza felina, serem atendidos primariamente em consultas de medicina geral e só posteriormente serem encaminhados para a consulta da especialidade, se não ocorrer resolução dos sinais oculares ou se houver complicações. Assim, os gatos pertencentes aos grupos etários mais jovens podem estar sub-representados neste estudo. Contudo, é de referir a elevada frequência (18,5%) de casos com idades compreendidas entre os 2 e os 6 meses de idade, comparativamente aos casos com <2 meses de idade e entre os 7-11 meses de idade.

Verificamos que existe história de conjuntivite em 27,8% dos gatos. Isto remete-nos para a possibilidade de nestes casos se tratar de um episódio recidivante da conjuntivite prévia, com a mesma etiologia. No entanto, não dispomos dessa informação e, na verdade, a etiologia da conjuntivite activa pode ser diferente. Uma elevada proporção de gatos apresenta um envolvimento bilateral (63%). Na verdade, o processo de algumas conjuntivites de origem infecciosa tem início num olho, mas geralmente progride e envolve o olho oposto. A gravidade pode diferir entre os dois olhos (Maggs, 2008b; Martin, 2010b).

A inflamação conjuntival é caracterizada por hiperémia conjuntival, quemose e corrimento ocular (Maggs, 2008b). Assim, para além da hiperémia conjuntival e quemose, observadas em graus variáveis de gravidade, o corrimento ocular foi o sinal ocular mais encontrado (n=34). A natureza do corrimento ocular é variável, de acordo com o seu principal componente (Maggs, 2008a; Petersen-Jones & Stanley, 2009), razão pela qual foram observados vários tipos de corrimento ocular. Uma inflamação ligeira resulta no aparecimento de um corrimento seroso (n=6), devido à hipersecreção lacrimal resultante da irritação ocular. O corrimento mucoso (n=1) resulta da excessiva produção de muco, em

resposta à irritação da superfície ocular. A infiltração de células inflamatórias pode ocorrer e manifesta-se pelo aparecimento de um corrimento purulento (n=12), que também pode estar associado com uma infecção bacteriana (Petersen-Jones & Stanley, 2009; Martin, 2010b). A percentagem relativamente elevada de gatos com corrimento purulento é concordante com o número significativo de gatos com inflamação neutrofílica na citologia conjuntival. O corrimento sanguinolento (n=5) é encontrado na conjuntivite ulcerativa (Maggs, 2008b), o que pode ser compatível com a patogénese dos agentes patogénicos da conjuntiva, nomeadamente o HVF-1 e a *C. felis* (Maggs, 2005; Cullen & Webb, 2013).

A conjuntivite pode causar algum grau de dor e desconforto ocular, que se manifesta por blefarospasmo (Martin, 2010b; Ledbetter, 2013), sendo um sinal expectável (n=11).

A presença de folículos linfóides (n=6) representa uma reacção inespecífica a uma estimulação antigénica crónica (Maggs, 2008b). No exame citológico, dois gatos tinham uma inflamação linfocítica-plasmocítica, que também está associada à inflamação crónica da conjuntiva (Maggs, 2008b).

A epífora (n=11) pode resultar de drenagem nasolacrimal inadequada, do aumento de produção lacrimal em resposta a irritação ocular, ou uma combinação de ambos (Petersen-Jones & Stanley, 2009).

A queratite (n=17) é um sinal ocular comum em gatos com conjuntivite, especificamente na infecção por HVF-1. De facto, a queratite ulcerativa herpética é muito frequente no gato, o que leva Hartley (2010a) a sugerir que a etiologia de uma úlcera da córnea no gato deve ser atribuída ao HVF-1, até prova em contrário.

Embora o sequestro de córnea possa desenvolver-se em qualquer gato, existe uma predisposição nas raças Persa, Himalaia, Birmanesa, e parece haver uma maior susceptibilidade no gato Siamês (Maggs, 2008c). A causa da doença é desconhecida, mas pode ocorrer após queratite ou ulceração da córnea crónica, razão pela qual o HVF-1 tem sido implicado na etiologia desta condição (Maggs, 2008c; Gould, 2011). O vírus é detectado em cerca de 50% de biópsias de animais com sequestro (Nasisse *et al.*, 1998 citado por Maggs, 2008c). De facto, os casos de sequestro de córnea ocorreram em gatos da raça Persa com queratite ulcerativa, comprovando-se a tendência descrita na bibliografia. Porém, o HVF-1 não foi detectado no gato que realizou PCR. Não obstante, em gatos com sequestro de córnea, a biópsia parece ser o tipo de amostra mais vantajoso para a detecção do vírus (Volopich *et al.*, 2005).

O simbléfaro (n=4) é uma sequela frequente da infecção por HVF-1 (Andrew, 2001). A infecção por HVF-1 foi confirmada num dos dois gatos em que foi realizado PCR.

Um quadro clínico com sinais associados ao tracto respiratório superior (n=15), queratite (4/15) e conjuntivite é sugestivo da síndrome coriza. Na realidade, a infecção por HVF-1 foi confirmada em seis gatos com sinais respiratórios e a infecção por *C. felis* em dois gatos.

Se partirmos do paradigma de que a maioria dos casos de conjuntivite felina é de origem infecciosa (Waters & Barnett, 2004; Hendrix, 2009; Hillström *et al.*, 2012; Maggs, 2012a), os principais diagnósticos diferenciais de um gato com conjuntivite é o HVF-1, a *C. felis* e o *Mycoplasma* spp. No entanto, nestes casos de conjuntivite verificamos que, por si só, os sinais clínicos de conjuntivite não nos permitem reconhecer a etiologia da conjuntivite. Numa tentativa de realizar um diagnóstico clínico, embora nos possamos guiar pelo quadro clínico que o animal apresenta, a verdade é que, na maioria dos casos, a realização de testes laboratoriais, ou seja, citologia conjuntival e/ou PCR, revela-se essencial.

Sabe-se que as vacinas contra o HVF-1, CVF e *C. felis* não induzem uma protecção completa (Richards *et al.*, 2006). Os gatos vacinados continuam em risco de contrair qualquer uma destas infecções.

Cerca de 80% dos gatos deste estudo são gatos que vivem exclusivamente no interior de uma habitação. O contacto com outros gatos e, em consequência, a probabilidade de contacto directo e/ou indirecto com agentes infecciosos como os abordados neste estudo é menor. Contudo, no caso do HVF-1, cerca de 80% dos gatos tornam-se portadores do vírus e cerca de metade sofre episódios de reactivação periódicos, que pode ser sintomática (Maggs, 2008b; Gould, 2011). Também a infecção por *C. felis* pode ter uma evolução crónica e insidiosa (Sykes, 2005). Não podemos excluir a possibilidade de entrada de novos animais na habitação e a presença destes agentes é comum na população felina.

A infecção concomitante com FIV ou FeLV pode levar ao desenvolvimento de conjuntivite crónica (O'Dair *et al.*, 1994; Andrew, 2001; Duarte, Alberto, Delgado, Sales Luís & Tavares, 2008). A imunossupressão causada por ambos os vírus também pode estar associada à reactivação viral do HVF-1 (Andrew, 2001). Estas são informações importantes a ter em conta num gato com suspeita de conjuntivite causada por HVF-1 ou *C. felis* infectados por FIV e/ou por FeLV.

5.2. Métodos de diagnóstico laboratorial

5.2.1. PCR *real-time*

Na prática clínica, a realização destes testes está muito condicionada pela capacidade monetária dos proprietários. Esta é a principal razão pela qual se verifica uma variabilidade no número de amostras submetidas para a realização de PCR entre os vários microrganismos.

Como seria expectável no diagnóstico da conjuntivite felina, o HVF-1 e a *Chlamydomphila felis* foram os agentes patogénicos mais pesquisados. Como referido anteriormente, a diferença entre o número de amostras analisadas por PCR para pesquisa de HVF-1 e *C. felis* é explicada pela ausência de consentimento por parte dos proprietários para a realização dos dois testes por serem dispendiosos, e pela principal suspeita do clínico, baseada no quadro clínico do animal. Por norma, a pesquisa de *C. felis* por PCR também não é realizada

quando o gato se encontrava a fazer medicação com antibióticos. O tratamento com antibióticos com espectro de acção contra a *C. felis*, nomeadamente doxiciclina, antes da colheita da amostra, pode afectar os resultados do PCR (Lappin, 2010; Sykes & Rankin, 2013b).

Pelas razões referidas, compreende-se também o número reduzido de PCR realizados para pesquisa de *M. felis* e de CVF. Sendo o HVF-1 e a *C. felis* considerados os principais agentes patogénicos da conjuntiva e estando a realização destes testes condicionada, a pesquisa destes agentes não é frequente. No entanto, alguns laboratórios comerciais disponibilizam actualmente estes testes como painéis, que incluem PCR para HVF-1, *C. felis*, *M. felis* e CVF, que são os agentes considerados no diagnóstico diferencial de conjuntivite no gato.

5.2.2. HVF-1

No presente estudo, a proporção de gatos infectados por HVF-1 foi de 32,3% (10/31). Este valor é consistente com as frequências de HVF-1 previamente publicadas. Low *et al.* (2007) detectaram HVF-1 em 12,2% dos gatos com conjuntivite, utilizando o PCR *real-time* em amostras conjuntivais. As taxas de detecção em gatos com doença ocular relatadas em outros estudos variaram entre 18% e 89%, verificando-se uma grande variabilidade nas frequências encontradas (Westermeyer, Kado-Fong & Maggs, 2008).

Neste grupo (n=31), a etiologia da conjuntivite não foi determinada numa quantidade significativa dos gatos em que se suspeitava de conjuntivite por HVF-1. Existem várias hipóteses para este resultado.

É possível que outro microrganismo tenha sido responsável pela conjuntivite. Na verdade, três gatos obtiveram resultados positivos a *C. felis*. Nos casos em que apenas o HVF-1 foi pesquisado, a *C. felis* e o *M. felis* podem ter sido a causa de algumas conjuntivites. O CVF é considerado um agente patogénico da conjuntiva de menor importância (Ramsey, 2000) e, para além disso, nenhum dos gatos apresentava sinais característicos deste vírus (úlceras orais). Nos gatos em que não foi detectado nenhum agente patogénico conjuntival, é possível que a conjuntivite tenha outra etiologia. Causas não-infecciosas de conjuntivite incluem, por exemplo, reacções de hipersensibilidade (Crispin, 2005).

Outra hipótese é que o HVF-1 pode ter desempenhado um papel no processo inicial da doença ocular, mas na altura da colheita da amostra o vírus poderia já não estar presente ou estar presente em quantidades abaixo dos limites detectáveis, mesmo que a inflamação ainda estivesse relacionada com o vírus. Isto é compatível com a patogénese do HVF-1, em que são considerados dois mecanismos pelos quais o HVF-1 causa doença: através da citólise, que resulta da replicação viral activa, ou por mecanismos imunomediados (Sykes *et al.*, 1999b; Rampazzo *et al.*, 2003; Low *et al.*, 2007). Esta é uma resposta pouco comum ao vírus, que resulta de uma reacção imunomediada, em que não ocorre replicação viral ou

esta é muito reduzida. Nestes casos, a detecção do vírus é mais difícil (Maggs, 2005). Assim, os casos crónicos e recidivantes, embora possam ser desencadeados inicialmente pelo HVF-1, podem subsequentemente ser perpetuados por uma resposta imunomediada.

No presente estudo, as diferenças nos protocolos de PCR *real-time* para detecção de HVF-1 e *C. felis* dos dois laboratórios podem ter afectado os resultados obtidos. Quando comparado com outros métodos de detecção, o PCR possui uma maior sensibilidade. No entanto, a sensibilidade desta técnica é variável entre laboratórios (Maggs & Clarke, 2005). Porém, na prática clínica é comum recorrer-se a laboratórios comerciais.

O método de colheita das amostras também pode afectar os resultados (Lappin, 2010; Sykes & Rankin, 2013b). Neste estudo, a colheita foi realizada através de um esfregaço conjuntival com zaragatoa estéril, por ser uma técnica simples e menos traumática (Maggs, 2002b; Featherstone & Heinrich, 2013). No entanto, a amostra obtida é pouco celular, comparativamente com uma amostra colhida através de raspagem ou escova de citologia (Maggs, 2002b). Assim, em alguns casos é possível que não se tenha obtido uma quantidade suficiente de células, particularmente em animais com dor ocular e pouco colaborantes. Segundo Maggs (2005), como o HVF-1 é um vírus intracelular obrigatório, seria expectável que quanto maior fosse o número de células colhidas, maior fosse a probabilidade de detecção do vírus. Assim, uma amostra obtida por raspagem ou com uma escova de citologia estaria associada a um aumento da detecção do vírus (Maggs, 2005). Contudo, Westermeyer *et al.* (2008) não encontrou diferenças nas taxas de detecção do HVF-1 das amostras conjuntivais que foram colhidas com zaragatoa e das que foram colhidas com escova de citologia.

O tipo de população estudada também pode influenciar a taxa de detecção do vírus (Low *et al.*, 2007). Em populações com elevado número de animais (ex. colónias) é esperada uma maior percentagem de infecções por HVF-1, *C. felis* e CVF do que em gatos de proprietários individuais que vivem em habitações (Helps *et al.*, 2005; Gaskell *et al.*, 2012). Os gatos incluídos neste trabalho pertencem todos a proprietários individuais e a maioria (79,6%) vive exclusivamente no interior de uma habitação, pelo que os contactos com outros gatos serão à partida muito pouco prováveis.

5.2.3. *Chlamydophila felis*

A *C. felis* tem sido isolada entre 0% a 56% em gatos com conjuntivite (Hartmann *et al.*, 2010; Wills *et al.*, 1988 citado por Sykes & Greene, 2012). A taxa de detecção de *C. felis* de 14,3% (3/21) situa-se dentro do intervalo dos valores publicados. Por exemplo, Hillström *et al.* (2012) obteve uma taxa de detecção de *C. felis* em gatos com conjuntivite de 9% (8/88) determinada por PCR *real-time*. Neste grupo (n=21) todos os gatos realizaram também PCR para HVF-1 e 7 gatos realizaram pesquisa para *M. felis* e CVF. Destes, a infecção por HVF-1 foi confirmada em 4 gatos. Nos restantes gatos, em que não foi detectado nenhum agente

infeccioso, é possível que a causa da conjuntivite possa ter sido o *M. felis* (nos casos em que não foi pesquisado). O CVF é uma causa pouco frequente. Nos gatos em que não foi possível determinar a etiologia da conjuntivite, outras causas de conjuntivite não-infecciosa devem ser consideradas, pois podem ter sido a causa da conjuntivite em alguns casos.

Outra hipótese é que em alguns casos podem ter sido obtidos resultados falso-negativos. A não detecção do HVF-1 em alguns dos casos (já discutida anteriormente), particularmente nos gatos com queratite e sinais associados ao tracto respiratório superior, como a não detecção da *C. felis* podem ter ocorrido. Como já foi explicado previamente, por norma a pesquisa de *C. felis* não é realizada nos gatos que se encontravam a fazer tratamento com antibióticos. É então pouco provável que a detecção desta bactéria tenha sido influenciada pelo tratamento antimicrobiano.

Embora menos prováveis, resultados falso-negativos também podem ocorrer associados ao método de colheita e à técnica de PCR. Como já referido relativamente ao HVF-1, as diferenças nos protocolos de PCR existentes entre laboratórios pode influenciar os resultados obtidos, podendo as taxas de detecção diferir entre os laboratórios (Lappin, 2010). A realização dos testes de PCR em dois laboratórios distintos pode ter afectado os resultados neste trabalho. A frequência de infecção por *C. felis* determinada por PCR em três laboratórios diferentes variou entre 2 a 17% (Sandmeyer *et al.*, 2010).

Sendo a *C. felis* uma bactéria intracelular obrigatória, a colheita de uma quantidade suficiente de células é importante (ABCD, 2008; Sykes, 2013a). Como já foi referido relativamente ao HVF-1, é possível que em alguns casos a colheita com zaragatoa não tenha optimizado a recolha de células epiteliais em quantidade suficiente e, consequentemente, a detecção da bactéria.

5.2.4. *Mycoplasma felis*

O *M. felis* não foi detectado em nenhuma das 7 amostras conjuntivais. O HVF-1 foi detectado em 2/7 amostras e a *C. felis* foi detectada também em 2/7 amostras. Nestes quatro casos a conjuntivite pode ser atribuída a estes dois agentes patogénicos. Nos restantes casos a etiologia da conjuntivite é desconhecida.

O papel do *M. felis* como causa primária de conjuntivite tem sido questionado (Sjödahl-Essén *et al.*, 2008), pois em alguns estudos a conjuntivite foi difícil de reproduzir experimentalmente (Stiles, 2013). Porém, o *Mycoplasma* spp. é mais frequentemente detectado em gatos com conjuntivite do que em gatos saudáveis, o que sugere uma associação entre o microrganismo e a doença (Low *et al.*, 2007). Alguns autores sugerem que o *Mycoplasma* spp. é patogénico quando existe um factor predisponente (Whitley, 2000; Gould, 2001; Stiles, 2012). Hillström *et al.* (2012) obteve uma taxa de detecção de *M. felis* em gatos com conjuntivite de 7%, determinada por PCR *real-time*. Em contraste, Sjödahl-Essén *et al.* (2008) obteve uma taxa de detecção de 0% em gatos com sinais oculares, o

que levou os autores a considerarem a possibilidade de a proporção de *M. felis* naquela população ser baixa. Uma situação semelhante pode ter acontecido no presente trabalho, sobretudo devido ao número reduzido de amostras conjuntivais avaliadas.

5.2.5. Calicivírus felino

O CVF é considerado um agente patogénico conjuntival de menor importância (Maggs, 2005). Embora a conjuntivite esteja descrita em gatos infectados com CVF, a conjuntivite sem a presença de outros sinais atribuíveis a este vírus é rara (Ramsey, 2000). Na bibliografia é sugerido que, quando é observada conjuntivite juntamente com sinais característicos de CVF, o CVF deve ser pesquisado (Ramsey, 2000; Gerriets, Joy, Huebner-Guthardt & Eule, 2012). Estas referências são concordantes com os resultados do estudo de Gerriets *et al.* (2012), que detectou CVF em 17% das amostras conjuntivais de gatos com conjuntivite e sinais ou história de doença do tracto respiratório superior, por PCR *real-time*. Todos os gatos infectados com CVF apresentavam úlceras orais (Gerriets *et al.*, 2012), sinal clínico característico deste agente (Radford *et al.*, 2007). No entanto, o autor afirma que não foi possível estabelecer uma associação entre as lesões conjuntivais observadas e a infecção por CVF (Gerriets *et al.*, 2012).

No presente estudo não foi detectado CVF em nenhuma das zaragatoas conjuntivais de gatos com conjuntivite. Estes resultados estão em concordância com o estudo de Cai *et al.* (2002), que obteve uma taxa de detecção de CVF de 0% (0/18) em gatos que exibiam conjuntivite.

Em primeiro lugar, convém referir que em metade destas amostras foram detectados outros agentes patogénicos: o HVF-1 (n=2) e a *C. felis* (n=1). Nestes casos, o desenvolvimento de conjuntivite pode ser atribuído ao HVF-1 e à *C. felis*. Em segundo lugar, nenhum destes animais apresentava ulceração oral, o que torna improvável o envolvimento do CVF no quadro clínico destes animais. Apenas 3 gatos evidenciavam sinais associados ao tracto respiratório superior, sendo que foi detectada *C. felis* num gato. Dois gatos evidenciavam queratite ulcerativa, tendo sido detectado HVF-1 num deles. De facto, a associação entre queratite e o CVF não está descrita na bibliografia (Gerriets *et al.*, 2012), pelo que a detecção de CVF nestes 2 gatos seria improvável, excepto se se verificasse uma co-infecção entre estes dois vírus.

5.3. Citologia conjuntival

A conjuntivite neutrofílica foi observada num grande número de amostras citológicas. A conjuntivite felina é frequentemente neutrofílica (Young & Prasse, 2008). Pode estar associada a causas infecciosas, nomeadamente infecções virais ou bacterianas, mas também a causas não infecciosas (Raskin, 2010). Na primeira categoria, destacam-se as infecções por HVF-1, por *C. felis* ou por *Mycoplasma* spp. (Raskin, 2009). No entanto, a

inflamação neutrofílica pode apenas representar uma inflamação não específica como resultado ao sobrecrecimento da microbiota da conjuntiva (Maggs, 2002b).

A inflamação linfocítica-plasmocítica (n=2) está associada à inflamação crónica da conjuntiva ou a condições alérgicas (Raskin, 2010).

A hiperplasia conjuntival (n=3) pode estar associada a causas como queratoconjuntivite seca, doença crónica, trauma resultante de agentes irritantes mecânicos e deficiência em vitamina A (Raskin, 2010). Este achado no exame citológico não fornece informação sobre a possível etiologia da conjuntivite.

Está descrito na bibliografia que os eosinófilos não são encontrados com frequência em gatos com conjuntivite (Nasisse *et al.*, 1993 citado por Hillström *et al.*, 2012). Os eosinófilos são encontrados na conjuntivite alérgica e na conjuntivite eosinofílica felina (Allgoewer *et al.*, 2001; Maggs, 2008b). Podemos inferir que é provável que nenhum dos gatos apresentasse conjuntivite devido a estas etiologias.

Duas citologias conjuntivais foram interpretadas como conjuntivite bacteriana. Um gato foi PCR-negativo a HVF-1. Na realidade, a conjuntivite bacteriana primária é rara no gato (Waters & Barnett, 2004). Pode, no entanto, ocorrer secundariamente a outras doenças oculares e quando os gatos estão imunocomprometidos (Crispin, 2002a). Neste caso, não dispomos de informação que nos permita afirmar se se trata de uma conjuntivite bacteriana primária ou se apenas se trata de um sobrecrecimento da microbiota da conjuntiva.

A citologia conjuntival é considerada um método de diagnóstico pouco sensível para a detecção de *C. felis* (Sykes, 2013a) porque as inclusões são observadas principalmente nas 2 primeiras semanas após infecção (Hoover *et al.*, 1978 citado por Hillström *et al.*, 2012). No presente estudo, as inclusões intracitoplasmáticas foram detectadas em 5 amostras conjuntivais. O mesmo tem ocorrido em vários estudos, em que são visualizadas inclusões de *C. felis* em amostras conjuntivais de gatos com conjuntivite (Rampazzo *et al.*, 2003; von Bomhard *et al.*, 2003; Volopich *et al.*, 2005; Hillström *et al.*, 2012). Uma vez que os resultados falso-positivos ou falso-negativos podem ocorrer, a confirmação do diagnóstico requer a realização de um teste de PCR.

Não foram encontrados corpos de inclusão compatíveis com *Mycoplasma* spp. em nenhuma das amostras conjuntivais examinadas (n=28). A citologia conjuntival é um método de diagnóstico pouco sensível e específico para o diagnóstico de infecção por *M. felis*, obtendo-se frequentemente resultados falso-negativos ou falso-positivos (Hillström *et al.*, 2012). Assim, isto pode significar que as inclusões de *Mycoplasma* spp. não estavam presentes ou que não foram observadas nestes exames citológicos.

Na infecção por HVF-1, as inclusões intranucleares são ocasionalmente encontradas (Hillström *et al.*, 2012). A sua presença foi relatada com o corante de Pappenheim (Volopich *et al.*, 2005). Estas inclusões virais não são normalmente visíveis quando são utilizados corantes do tipo Romanowsky como por exemplo, o Wright-Giemsa (Andrew, 2001; Hillström

et al., 2012). Esta informação é concordante com o estudo de Hillström *et al.* (2012), que não detectou nenhuma inclusão viral com um corante do tipo Romanowsky e com o presente estudo, onde também foi usado o corante Giemsa.

Slatter (2001) refere que a citologia raramente conduz a um diagnóstico específico. De facto, os achados citológicos não são específicos de nenhuma causa de conjuntivite e, portanto, não foram úteis para a determinação da etiologia da conjuntivite. No entanto, neste estudo, a citologia conjuntival pareceu ser útil no diagnóstico da clamidiose quando são detectadas inclusões de *C. felis* no exame citológico. Este resultado empírico é corroborado por alguns estudos que relatam uma elevada concordância entre a citologia conjuntival e o PCR no diagnóstico da infecção por *C. felis*, em gatos com conjuntivite aguda (Rampazzo *et al.*, 2003), e que relatam a utilidade da citologia conjuntival quando estão presentes muitas inclusões típicas de *C. felis* (Hillström *et al.*, 2012). Pode também ser uma ferramenta útil quando se suspeita de sobrecrecimento da microbiota da conjuntiva e na decisão de quais os casos em que os antibióticos tópicos estão recomendados. De facto, os antibióticos tópicos são frequentemente prescritos nos casos de conjuntivite. Porém, esta abordagem é apropriada em duas situações: para o tratamento da conjuntivite bacteriana primária, que é rara, e quando o objectivo é limitar o sobrecrecimento da microbiota conjuntival (Maggs, 2008b).

5.4. Comparação entre resultados da citologia conjuntival e PCR *real-time*

Todos os gatos que obtiveram resultados positivos a *C. felis* por PCR (que realizaram citologia) (n=2) apresentavam inclusões nas amostras conjuntivais, interpretadas como inclusões de *C. felis*. O terceiro gato PCR-positivo a *C. felis* não realizou citologia. Não se verificaram resultados falso-negativos na citologia, comparativamente ao resultado do PCR. No entanto, é possível que tenham ocorrido resultados falsos-negativos, tanto no PCR como na citologia, em alguns gatos infectados por *C. felis*. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Hillström *et al.* (2012), em que foram detectadas inclusões de *C. felis* em todos os gatos PCR-positivos. Rampazzo *et al.* (2003) verificou uma concordância significativa entre estes dois métodos de diagnóstico em gatos com infecção aguda.

No gato PCR-negativo a *C. felis* em que foram encontradas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* no exame citológico, é possível que tenham ocorrido resultados falso-negativos no PCR ou falso-positivos na citologia. Um exemplo de um resultado falso-positivo no exame citológico é a presença e interpretação de grânulos de melanina como inclusões de *C. felis* (Hillström *et al.*, 2012).

5.5. Tratamento

A realização do diagnóstico etiológico permite a escolha do regime terapêutico adequado (Powell, 2003). Contudo, por vezes o tratamento instituído para a conjuntivite felina é

empírico (Diehl, 2007), ou porque a realização de testes é condicionada pela situação económica dos proprietários, ou porque o gato exhibe sinais característicos de um determinado agente etiológico, mesmo que se tenha obtido um resultado negativo no PCR. Um exemplo desta situação é um gato com úlceras dendríticas da córnea, patognomónicas da infecção por HVF-1. Contudo, o tratamento empírico está associado a algumas desvantagens. Por exemplo, os antivirais tópicos são relativamente caros, podem provocar irritação ocular e necessitam de uma aplicação muito frequente.

O regime terapêutico instituído nos gatos com conjuntivite consistiu maioritariamente no tratamento antiviral (antiviral, lisina e IFN) e/ ou na antibioterapia tópica e sistémica. Do tratamento antiviral, destaca-se os antivirais tópicos, prescritos nos casos de infecção herpética confirmada por PCR, nos casos em que o animal exhibe sinais oculares patognomónicos da infecção por HVF-1 apesar de se ter obtido um resultado PCR-negativo e, ocasionalmente, nos casos em que não foi possível a realização deste teste devido ao factor económico dos proprietários. A lisina e o IFN constituem o tratamento coadjuvante da infecção herpética. Tendo em conta que apenas 3 gatos foram PCR-positivos a *C. felis*, a elevada prescrição de antibióticos tópicos reflecte o tratamento empírico nos casos em que não foram realizados testes de diagnóstico adicionais e os casos em que se suspeitou de sobrecrecimento da microbiota conjuntival. A antibioterapia sistémica refere-se sobretudo à doxiciclina, prescrita nos casos de clamidiose. Os AINEs, a ciclosporina, os corticosteróides e os anti-histamínicos tópicos, as lágrimas artificiais e os fármacos midríáticos e ciclopégicos tópicos são utilizados como tratamento paliativo.

5.6. Características associadas aos gatos PCR-positivos a HVF-1 (n=10)

Na bibliografia consultada não está descrita nenhuma predisposição de raça e de género para a infecção com o HVF-1. Neste grupo, as raças mais afectadas, DPC e Persa, são as raças mais representadas na população em estudo. Esta pode provavelmente ser a razão pela qual estas são as raças com maior percentagem. A diferença observada no maior número de gatos machos com HVF-1 pode ser atribuída ao facto de a proporção de machos (n=33) ser maior do que a de fêmeas (n=21) na população estudada.

A infecção por HVF-1 é mais frequente em gatos jovens (<1 ano) (Binns *et al.*, 2000; Bannarch & Foley, 2005; Gaskell *et al.*, 2012). A infecção primária tende a ocorrer em gatinhos, havendo uma elevada susceptibilidade após o declínio dos anticorpos maternos, a partir das 8 semanas de idade (Gould, 2011). A infecção crónica ou recidivante está associada aos gatos adultos (Stiles, 2003). Neste grupo, a média de idades relativamente elevada (2,8 anos) e a elevada proporção de gatos com idades compreendidas entre os 1- <5 anos (n=6) pode reflectir a média de idades verificada na população em estudo (3,9 anos). Como já foi mencionado, os animais mais jovens com infecção aguda podem estar

sub-representados neste estudo. No entanto, verificamos que 3 dos gatos com HVF-1 pertencem ao grupo etário de elevado risco (<1 ano).

Dos 10 gatos com HVF-1, apenas 3 tinham história de vacinação prévia; nos restantes gatos o estado vacinal é desconhecido. Sabe-se que as vacinas contra o HVF-1 protegem contra a doença clínica, reduzindo a gravidade dos sinais clínicos, mas não previnem a infecção ou o estabelecimento da infecção latente (Gaskell *et al.*, 2007). Nestes três casos a vacinação não preveniu o desenvolvimento de conjuntivite. No estudo de Rampazzo *et al.* (2003), a probabilidade de um gato desenvolver conjuntivite causada por HVF-1 não foi afectada pela vacinação, uma vez que 56% dos gatos com conjuntivite estavam vacinados.

Os gatos que têm contacto com outros animais têm um risco mais elevado para contrair a infecção por HVF-1 (Sykes *et al.*, 1999b). Os gatos que têm acesso ao exterior têm uma maior probabilidade de estabelecer contacto com outros gatos potencialmente infectados. Neste grupo, a maioria dos gatos (n=7) tinha um estilo de vida *indoor*. Pode colocar-se duas hipóteses para esta elevada frequência de infecção em gatos com um tipo de vida exclusivamente interior: os gatos mais jovens (<1 ano) podem ter sido adoptados num abrigo em que o vírus era muito prevalente ou podem ter adquirido a infecção através da progenitora; os gatos com idades >1 ano podem ser gatos portadores de infecção latente em que um episódio de *stress* (ex. viagem) levou à reactivação viral e doença recrudescente. Também não podemos descartar a hipótese de ter sido introduzido um novo gato com infecção activa na habitação.

Todos os gatos com história de conjuntivite tinham mais de 1 ano de idade. É possível que a causa do episódio anterior de conjuntivite tenha sido o HVF-1 e que estes casos representem episódios de reactivação viral latente.

Como já foi referido anteriormente, a progressão dos sinais oculares e a doença ocular bilateral (n=8) é frequente (Martin, 2010b). Os sinais clínicos associados à doença recrudescente podem ser uni- ou bilaterais (Maggs, 2008b).

O elevado número de gatos com corrimento ocular era expectável. O corrimento ocular surge associado à conjuntivite (Maggs, 2008b) e é um sinal frequente tanto na infecção primária como na doença recrudescente (Maggs, 2005; Gould, 2011). Inicialmente o corrimento ocular é seroso (n=2) mas, frequentemente, pode tornar-se purulento (n=1) (Maggs, 2005).

A queratite é outro dos sinais expectáveis num animal com HVF-1, pois resulta dos efeitos citopáticos directos do vírus no epitélio da córnea (Maggs, 2005; Andrew, 2008). Pode ocorrer na infecção primária ou na doença recrudescente (Maggs, 2005; Gould, 2011).

As causas do desenvolvimento de epífora já foram referidas anteriormente. Na infecção por HVF-1, a conjuntivite grave pode causar lesão dos pontos lacrimais, o que origina epífora crónica, que pode persistir após a resolução da conjuntivite (Stiles, 2003). A epífora surge assim como uma sequela da infecção.

O simbléfaro é comum em gatos jovens com história compatível com infecção por HVF-1 (Andrew, 2001). Em casos graves de conjuntivite herpética, pode ocorrer adesão entre as superfícies da conjuntiva ou entre a conjuntiva e a córnea (Stiles, 2012).

A ausência de blefarospasmo neste grupo não era esperada. A doença ocular associada ao HVF-1 habitualmente causa dor, mesmo nos gatos só com conjuntivite (Stiles, 2003).

Como seria de esperar, a maioria dos animais infectados com HVF-1 apresentavam sinais associados ao tracto respiratório superior. A infecção primária está associada a sinais de rinite, tais como espirros e corrimento nasal seroso ou purulento (Maggs, 2005; Gaskell *et al.*, 2012). Na doença recrudescente resultante de reactivação viral, os sinais do tracto respiratório superior podem ou não estar presentes (Maggs, 2008b; Stiles, 2012). Na bibliografia também é referido que um gato com espirros tem uma probabilidade de estar infectado com HVF-1 cerca de três vezes (2,7) maior do que gatos infectados com *C. felis* (Sykes *et al.*, 1999b).

O exame citológico de quatro gatos com HVF-1 revelou uma inflamação neutrofílica. De facto, na bibliografia está descrito que a infecção por HVF-1 é uma causa comum deste tipo de inflamação (Raskin, 2009). No entanto, este achado não é específico da infecção por HVF-1, pelo que não é considerado vantajoso para o diagnóstico.

Relativamente às citologias com características normais (n=2), Hillström *et al.* (2012) obtiveram resultados semelhantes. Nesse estudo, 4/9 gatos com PCR positivo para HVF-1 não apresentavam inflamação ou apenas uma inflamação ligeira no exame citológico.

Após confirmação da presença do HVF-1, o tratamento antiviral foi instituído nestes animais.

5.7. Características associadas aos gatos PCR-positivos a *C. felis* (n=3)

A dimensão deste grupo é muito reduzida para se fazer qualquer tipo de generalização.

Não é conhecida nenhuma predisposição de raça para a infecção com *C. felis* (Sykes *et al.*, 1999b; Rampazzo *et al.*, 2003). Neste grupo, e à semelhança do que se observou no grupo de gatos infectados por HVF-1, os gatos pertenciam às raças DPC e Persa. Estas são as raças mais representadas na população em estudo.

Relativamente ao género, também não está descrita na bibliografia nenhuma predisposição (Sykes *et al.*, 1999b; Rampazzo *et al.*, 2003). O facto de os três gatos serem do sexo masculino deve-se ao acaso e também observámos uma ligeira sobre-representação de machos.

Estudos demonstram que a infecção por *C. felis* é mais frequente em gatos jovens, com idades compreendidas entre os 2 meses e 1 ano de idade, sendo o risco de infecção particularmente elevado entre os 2 e os 6 meses de idade. Gatos com mais de 5 anos de idade são menos frequentemente afectados (Sykes *et al.*, 1999b; Sykes & Greene, 2012). Em concordância com os estudos acima referenciados, 2 dos gatos infectados tinham <1 ano de idade (2-6 meses e 7-11 meses), sendo que o terceiro tinha <5 anos de idade.

Há registo de que um gato estava vacinado; no entanto, a vacinação não previne a infecção ou a excreção mas reduz a gravidade dos sinais clínicos (Richards *et al.*, 2006; ABCD, 2008; Sykes & Greene, 2012). Um gato tem hábitos de vida semi-livre, o que possibilita o contacto directo com outros gatos possivelmente infectados e as suas secreções oculares.

O gato infectado com FeLV apresentava conjuntivite crónica, com duração de cerca de 2 meses. A imunossupressão que este vírus causa pode levar ao desenvolvimento secundário de infecções oportunistas (Sykes & Hartmann, 2013), o que pode ser o caso desta infecção por *C. felis*. À semelhança do FIV (O'Dair *et al.*, 1994), o FeLV também pode levar ao desenvolvimento de conjuntivite crónica (Duarte, Alberto, Delgado, Sales Luís & Tavares, 2008).

A conjuntivite era unilateral em dois gatos e bilateral em um gato. Como é descrito na bibliografia, a conjuntivite pode ser inicialmente unilateral, mas geralmente progride e torna-se bilateral (ABCD, 2008; Maggs, 2008b).

O corrimento ocular, neste caso purulento (n=2), é um sinal característico associado à conjuntivite. Com a progressão da infecção é comum haver progressão de um corrimento ocular seroso para mucopurulento (Crispin, 2002a; ABCD, 2008). Como se veio a verificar, não se esperaria que a queratite fosse encontrada neste grupo, pois a doença da córnea é rara e, se presente, deve-se provavelmente à co-infecção com o HVF-1 (Sykes, & Greene, 2012).

A *C. felis* também pode infectar o tracto respiratório superior, mas os sinais de rinite são menos frequentes e geralmente ligeiros (Gould & Papasouliotis, 2013; Stiles, 2013). Alguns gatos desenvolvem espirros ou corrimento nasal (Sykes & Greene, 2012), como foi observado nestes dois casos.

Neste grupo foram observadas inclusões intracitoplasmáticas de *C. felis* em todos os gatos que realizaram citologia (n=2) (já discutido previamente). A inflamação neutrofílica foi observada em todos os gatos PCR-positivos, que realizaram citologia conjuntival (n=2). Este resultado está de acordo com os resultados de von Bomhard *et al.* (2003) e de Hillström *et al.* (2012), em que se verifica a mesma tendência. Segundo von Bomhard *et al.* (2003), a ausência de inflamação neutrofílica torna menos provável a detecção deste agente.

Após a confirmação da infecção por *C. felis*, foi instituído o tratamento com doxiciclina sistémica nestes gatos.

5.8. Limitações do estudo

O presente estudo possui várias limitações. Em primeiro lugar, o reduzido tamanho da população em estudo não permitiu que se retirassem conclusões estatisticamente significativas. Deste modo, os resultados do presente estudo devem ser interpretados com cautela.

Em segundo lugar, por se tratar de um estudo retrospectivo, os parâmetros são analisados depois de a doença ter ocorrido (Fronteira, 2013). Isto traz limitações relativas às informações existentes, pois nem sempre foram registadas todas as informações pertinentes para o estudo. A classificação da gravidade da conjuntivite ficou limitada por essa razão. Por último, a utilização de dois laboratórios para a realização dos testes de PCR *real-time* e a inerente variabilidade dos protocolos pode ter influenciado os resultados. No entanto, a comparação de diferentes protocolos de PCR não foi um dos objectivos deste estudo.

6. CONCLUSÃO

O estudo realizado permitiu descrever as características de uma população de 54 gatos com conjuntivite. Permitiu obter alguns dados sobre a abordagem ao diagnóstico e à terapêutica da conjuntivite no gato.

Em primeiro lugar, os resultados deste estudo deram ênfase à natureza infecciosa da conjuntivite felina. O HVF-1 e a *C. felis* foram frequentemente encontrados neste grupo de gatos. No entanto, o *Mycoplasma* spp. e o CVF também devem ser considerados no diagnóstico diferencial. E, embora se parta habitualmente deste paradigma, são reconhecidas várias outras causas de conjuntivite no gato.

O diagnóstico etiológico é importante para a escolha da melhor abordagem terapêutica na conjuntivite felina, mas neste estudo constatou-se que não é possível determinar a etiologia apenas com base nos sinais clínicos. A quemose, a hiperémia conjuntival e o corrimento ocular foram os sinais clínicos mais registados. Estes são os sinais que caracterizam a inflamação conjuntival. Como tal, a presença de conjuntivite por si só, deve ser considerada um “sinal clínico” e não um diagnóstico, pois este padrão clínico parece ser comum a todas as etiologias de conjuntivite, ocorrendo apenas variações relativamente ao grau de gravidade do mesmo (ligeiro, moderado, grave).

Frequentemente, o quadro clínico não é suficiente para se fazer a diferenciação entre os agentes infecciosos associados à conjuntivite felina. Por exemplo, sabe-se que a infecção por HVF-1 pode causar conjuntivite em associação com queratite e/ou sinais de doença respiratória superior (Maggs, 2005), enquanto a *C. felis* é principalmente um agente patogénico da conjuntiva, e a quemose é o sinal predominante (Sykes, 2005). Neste estudo, verificou-se que, por vezes, o quadro clínico apresentado por estes agentes pode ser muito semelhante. Para além disso, embora não se tenha verificado neste estudo, a co-infecção entre estes agentes pode ocorrer (Rampazzo *et al.*, 2003; Hartmann *et al.*, 2010).

Para determinar a etiologia da conjuntivite recorreu-se habitualmente à realização da técnica de PCR *real-time* e da citologia conjuntival. O PCR *real-time* demonstrou ser vantajoso e constituir uma boa abordagem para o diagnóstico etiológico. Consistiu numa forma de confirmar o envolvimento do HVF-1 e da *C. felis* no processo clínico ocular.

O diagnóstico etiológico permitiu a escolha adequada da terapêutica. A confirmação da infecção por HVF-1 foi útil para identificar os animais nos quais o tratamento com antivirais, lisina e IFN está mais indicado. Também a confirmação da infecção por *C. felis* permite a escolha da antibioterapia mais adequada a esta bactéria. Além disso, permite a implementação de medidas de profilaxia, pois é recomendado que todos os gatos que estão em contacto sejam tratados para prevenir as reinfecções cíclicas.

A citologia conjuntival pareceu ser uma ferramenta de diagnóstico útil na infecção por *C. felis*. É um método simples, rápido, pouco dispendioso e que não requer a utilização de

equipamentos muito sofisticados. Pode também ser uma ferramenta útil na decisão de quais os casos em que os antibióticos tópicos estão recomendados.

A realização destes testes de diagnóstico é dispendiosa. A actual conjuntura económica do país condiciona frequentemente o consentimento dos proprietários para a realização destes testes, particularmente do PCR. Nestes casos, o clínico baseia a sua abordagem (i) na história clínica e sinais clínicos observados e (ii) no tratamento empírico e resposta à terapêutica. Nestes casos, a adesão dos proprietários ao regime terapêutico é ainda mais importante. Na verdade, há clínicos que começam a abandonar os testes laboratoriais para o diagnóstico de HVF-1 e *C. felis* em gatos com conjuntivite e apostam na abordagem clínica (Maggs, 2012a).

BIBLIOGRAFIA

- Alcalá, V.C., Duato, M.G., Gómez, A.D. & Corrales, G.M. (2006). *Pequeños Animales*, 63, 68-75.
- Allgoewer, I., Schäffer, E.H., Stockhaus, C. & Vögtlin, A. (2001). Feline eosinophilic conjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 4 (1), 69–74.
- Andrew, S.E. (2001). Ocular manifestations of feline herpesvirus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3 (1), 9-16.
- Andrew, S.E. (2008). Immune-mediated canine and feline keratitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38 (2), 269-290.
- Bannasch, M.J. & Foley, J.E. (2005). Epidemiologic evaluation of multiple respiratory pathogens in cats in animal shelters. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7 (2), 109-119.
- Beaumont, S.L., Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2003). Effects of bovine lactoferrin on in vitro replication of feline herpesvirus. *Veterinary Ophthalmology*, 6 (3), 245-250.
- Bennet, D. (2010). Immune-mediated and infective arthritis. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine*. (7th ed.). (pp. 743-749). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Ben-Shlomo, G. (2012). Keratoconjunctivitis sicca. Acedido em Set. 30, 2013, em: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5442>
- Bianciardi, T. & Otranto, D. (2005). Treatment of dog thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) using a topical formulation of imidacloprid 10% and moxidectin 2.5%. *Veterinary Parasitology*, 129 (1-2), 89-93.
- Binns, S.H., Dawson, S., Speakman, A.J., Cuevas, L.E., Hart, C.A., Gaskell, C.J., Morgan, K.L. & Gaskell, R.M. (2000). A study of feline upper respiratory tract disease with reference to prevalence and risk factors for infection with feline calicivirus and feline herpesvirus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2 (3), 123-33.
- Bonilla, H.F., Chenoweth, C.E., Tully, J.G., Blythe, L.K., Robertson, J.A., Ognenovski, V.M. & Kauffman, C.A. (1997). *Mycoplasma felis* septic arthritis in a patient with hypogammaglobulinemia. *Clinical Infectious Diseases*, 24 (2), 222-225.
- Brömmel, C. & Greene, C. (2012). Histoplasmosis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 614-621). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Browning, G.F. (2004). Is *Chlamydophila felis* a significant zoonotic pathogen? *Australian Veterinary Journal*, 82 (11), 695-696.
- Burgesser, K.M., Hotaling, S., Schiebel, A., Ashbaugh, S.E., Roberts, S.M. & Collins, J.K. (1999). Comparison of PCR, virus isolation and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11 (2), 122–126.
- Burgesser, K.M., Hotaling, S., Schiebel, A., Ashbaugh, S.E., Roberts, S.M. & Collins, J.K. (1999). Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining

- in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11 (2), 122–126.
- Cai, Y., Fukushi, H., Koyasu, S., Kuroda, E., Yamaguchi, T. & Hirai, K. (2002). An etiological investigation of domestic cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (3), 215-219.
- Chalker, V.J., Owen, W.M., Paterson, C.J. & Brownlie, J. (2004). Development of a polymerase chain reaction for the detection of *Mycoplasma felis* in domestic cats. *Veterinary Microbiology*, 100 (1-2), 77–82.
- Champagne, E.S. (2001). Ocular pharmacology. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 16 (1), 13-16.
- Chandler, J.C. & Lappin, M.R. (2002). Mycoplasmal respiratory infections in small animals: 17 cases (1988-1999) [abstract]. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38 (2), 111-119.
- Clode, A. (2013). Clinical pharmacology and therapeutics. Part 2: antibacterial agents, antifungal agents and antiviral agents. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 381-406). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Coyne, K.P., Dawson, S., Radford, A.D., Cripps, P.J., Porter, C.J., McCracken, C.M. & Gaskell, R.M. (2006). Long-term analysis of feline calicivirus prevalence and viral shedding patterns in naturally infected colonies of domestic cats. *Veterinary Microbiology*, 118 (1-2), 12-25.
- Coyne, K.P., Gaskell, R.M., Dawson, S., Porter, C.J. & Radford, A.D. (2007). Evolutionary mechanisms of persistence and diversification of a calicivirus within endemically infected natural host populations. *Journal of Virology*, 81 (4), 1961-1971.
- Crispin, S. (2002a). The conjunctiva. In S. Petersen-Jones & S. Crispin (Eds.), *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. (2nd ed.). (pp.124-133). England: BSAVA.
- Crispin, S. (2002b). The cornea. In S. Petersen-Jones & S. Crispin (Eds.), *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. (2nd ed.). (pp.134-154). England: BSAVA.
- Crispin, S. (2002c). The lacrimal system. In S. Petersen-Jones & S. Crispin (Eds.), *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. (2nd ed.). (pp.105-123). England: BSAVA.
- Crispin, S.M. (2005). Feline ophthalmology. In S.M. Crispin (Ed.), *Notes on veterinary ophthalmology*. (pp. 177-227). Oxford: Blackwell Science.
- Cullen, C.L., Lim, C. & Sykes, J. (2005). Tear film breakup times in young healthy cats before and after anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 8 (3), 159-165.
- Cullen & Webb (2013). Ocular manifestations of systemic disease. Part 2: the cat. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 1978-2036). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Davison, A.J., Eberle, R., Ehlers, B., Hayward, G.S., McGeoch, D.J., Minson, A.C., Pellett, P.E., Roizman, B., Studdert, M.J. & Thiry, T. (2009). The order *Herpesvirales*. *Archives of Virology*, 154 (1), 171-177.
- Day, M.J., Horzinek, M.C. & Schultz, R.D. (2010). WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 51 (6), 1-32.

- Dean, E. & Meunier, V. (2013). Feline eosinophilic keratoconjunctivitis: a retrospective study of 45 cases (56 eyes). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15 (8), 661-666.
- Delgado, E. (2010). Exame oftálmico. *Texto de apoio à disciplina de Propedêutica Médica I*. Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Doménech, A., Miró, G., Collado, V., Ballesteros, N., Sanjosé, L., Escolar, E., Martin, S. & Gomez-Lucia, E. (2011). Use of recombinante interferon ómega in feline retrovirois: from theory to practice. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143 (3-4), 301-306.
- Drazenovich, T.L., Fascetti, A.J., Westermeyer, H.D., Sykes, J.E., Bannasch, M.J., Kass, P.H., Hurley, K.F. & Maggs, D.J. (2009). Effects of dietary lysine supplementation on upper respiratory and ocular disease and detection of infectious organisms in cats within an animal shelter. *American Journal of Veterinary Research*, 70 (11), 13-91–1400.
- Duarte, A., Alberto, A., Delgado, E., Sales-Luís, J. & Tavares, L. (2008). Avaliação de um ensaio de PCR para diagnóstico de herpesvírus felino em animais com lesões oftalmológicas. *Proceedings do IV Congresso de Ciências Veterinárias, INRB/INIA Fonte Boa, Portugal, 27-29 Novembro*, p. 201.
- Ernst, S. & Goggin, J.M. (1999). What is your diagnosis? Mycoplasma arthritis in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215 (1), 19-20.
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2008). ABCD guidelines on: *Chlamydophila felis infection in cats*. Acedido em Set. 9, 2013, em: http://www.abcd-vets.org/guidelines/guidelines_pdf/0810_ABCD_CF_GUIDELINES.pdf
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2012a). *ABCD guidelines on: Feline calicivirus infection*. Acedido em Set. 9, 2013, disponível em: http://www.abcd-vets.org/guidelines/guidelines_pdf/1201-FCV_Guideline.pdf
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2012b). *ABCD guidelines on: Feline herpesvirus infection*. Acedido em Set. 9, 2013, disponível em: http://www.abcd-vets.org/guidelines/guidelines_pdf/1201-FHV_Guideline.pdf
- Fascetti, A.J., Maggs, D.J., Kanchuk, M.L., Clarke, H.E & Rogers, Q.R. (2004). Excess dietary lysine does not cause lysine-arginine antagonism in adult cats. *The Journal of Nutrition*, 134 (8), 2042–2045.
- Featherstone, H.J. & Heinrich, C.L. (2013). Ophthalmic examination and diagnosis. Part 1: The eye examination and diagnostic procedures. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 533-613). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Feenstra, R.P. & Tseng, S.C. (1992). Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology*, 99 (4), 605-617.
- Foley, J.E. (2006). Calicivirus: spectrum of disease. In J.R. August (Ed.), *Consultations in feline internal medicine*. (5th ed.). (pp. 3-9). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Foley, J.E. (2010). Veterinary diagnosis of bacterial, fungal, and viral diseases. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine*. (7th ed.). (pp. 319-321). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.

- Foster, S.F., Barrs, V.R., Martin, P. & Malik, R. (1998). Pneumonia associated with *Mycoplasma* spp in three cats [abstract]. *Australian Veterinary Journal*, 76 (7), 460-464.
- Foster, S.F., Martin, P., Allan, G.S., Barrs, V.R. & Malik, R. (2004). Lower respiratory tract infections in cats: 21 cases (1995-2000). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6
- Fronteira, I. (2013). Estudos Observacionais na Era da Medicina Baseada na Evidência: Breve Revisão Sobre a Sua Relevância, Taxonomia e Desenhos. *Revista Científica da Ordem dos Médicos*, 26(2), 161-170. (3), 167-180.
- Frowde, P.E., Battersby, I.A., Whitley, N.T. & Elwood, C.M. (2011). Oesophageal disease in 33 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13 (8), 564-569.
- Gaskell, R.M., Dawson, S. & Radford, A. (2010). Other feline viral diseases. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine*. (7th ed.). (pp. 946-951). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Gaskell, R.M., Dawson, S. & Radford, A. (2012). Feline respiratory disease. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious disease of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 151-162). Missouri: Elsevier Saunders.
- Gaskell, R.M., Radford, A.D. & Dawson, S. (2004). Feline infectious respiratory disease. In E.A. Chandler, R.M. Gaskell & C.J. Gaskell (Eds.), *Feline medicine and therapeutics*. (3rd ed.). (pp. 577-595). Oxford: Blackwell Publishing.
- Gelatt, K.E. & Brooks, D.E. (2011). Surgical procedures for the conjunctiva and the nictitating membrane. In K.N. Gelatt & J.P. Gelatt (Eds.), *Veterinary ophthalmic surgery*. (pp. 157-190). Elsevier Saunders.
- Gelatt, K.N., van der Woerd, A., Ketrang, K.L., Andrew, S.E., Brooks, D.E., Biro, D.J., Denis, H.M. & Cutler, T.J. (2001). Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Veterinary Ophthalmology*, 4 (2), 99-106.
- Gerhardt, N., Schulz, B.S., Werckenthin, C. & Hartmann, K. (2006). Pharmacokinetics of enrofloxacin and its efficacy in comparison with doxycycline in the treatment of *Chlamydia felis* infection in cats with conjunctivitis [abstract]. *Veterinary Record*, 159 (18), 591-594.
- German, A.J., Cannon, M.J., Dye, C., Booth, M.J., Pearson, G.R., Reay, C.A. & Gruffydd-Jones, T.J. (2005). Oesophageal strictures in cats associated with doxycycline therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7 (1), 33-41.
- Gerriets, W., Joy, N., Huebner-Guthardt, J. & Eule, J.C. (2012). Feline calicivirus: a neglected cause of feline ocular surface infections? *Veterinary Ophthalmology*, 15 (3), 172-179.
- Giuliano, E.A. (2013). Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.). (pp. 912-944). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Glaser, C.A., Powers, E.L. & Greene, C.E. (2012). Zoonotic infections of medical importance in immunocompromised humans. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 1141-1162). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Glaze, M.B. & Gelatt, K.N. (1999). Feline ophthalmology. In K.N. Gelatt (Ed.), *Veterinary ophthalmology*. (3rd ed.). (pp. 997-1052). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.

- Glaze, M.B. (2008). Feline conjunctivitis: workup and treatment options [versão electronica]. In *Proceedings of the British Small Animal Veterinary Congress 2008, 3-6 April*. Acedido em Set. 13, 2013, disponível em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=BSAVA2008&PID=20211&O=VIN>
- Glaze, M.B. (2011). *Feline herpesvirus-1 ocular infection*. Acedido em Ago. 29, 2013. disponível em, <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=751>
- Gould, D. & Papasouliotis, K. (2013). Clinical microbiology and parasitology. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 300-350). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Gould, D. (2001). The eye. In I. Ramsey & B. Tennant (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline infectious diseases*. Gloucester: BSAVA.
- Gould, D. (2011). Feline herpesvirus-1: ocular manifestations, diagnosis and treatment options. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13 (5), 333-346.
- Grahn, B.H. & Storey, E.S. (2004). Lacrimostimulants and lacrimomimetics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34 (3), 739-753.
- Grahn, B.H. & Wolfer, J. (2009). Therapeutics. In R.L. Peiffer & S.M. Petersen-Jones (Eds.), *Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach*. (4th ed.) (pp. 50-66). Saunders Elsevier.
- Gray, H. & Morgan, R. (2008). Eosinophilic keratitis. Acedido em Set. 29, 2013, em: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=738>
- Gray, L.D., Ketring, K.L. & Tang, Y.W. (2005). Clinical use of 16S rRNA gene sequencing to identify *Mycoplasma felis* and *M. gateae* associated with feline ulcerative keratitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (7), 3431-3434.
- Greene, C.E. & Calpin, J. (2012). Appendix: Antimicrobial drug formulary. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 1207-1320). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Greene, C.E. & Chalker, V.J. (2012). Nonhemotropic mycoplasmal, ureaplasma and L-form infections. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 319-325). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Greene, C.E. & Marks, S.L. (2012). Gastrointestinal and intra-abdominal infections. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious disease of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 950-981). Missouri: Elsevier Saunders.
- Greene, C.E. & Levy, J.K. (2012). Immunoprophylaxis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 1163-1205). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Haid, C., Kaps, S., Gönczi, E., Hässig, M., Metzler, A., Spiess, B.M. & Richter, M. (2007). Pretreatment with feline interferon omega and the course of subsequent infection with feline herpesvirus in cats. *Veterinary Ophthalmology*, 10 (5), 278-284.

- Hamor, R.E. (2001). Techniques for collection and interpretation of tissue samples in ocular disease. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 16 (1), 17-21.
- Hartley, C. (2010a). Aetiology of corneal ulcers. Assume FHV-1 unless proven otherwise. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12 (1), 24-35.
- Hartley, C. (2010b). Treatment of corneal ulcers: what are the medical options? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12 (5), 384-397.
- Hartley, J.C., Stevenson, S., Robinson, A.J., Littlewood, J.D., Carder, C., Cartledge, J., Clark, C. & Ridgway, G.L. (2001). Conjunctivitis due to *Chlamydophila felis* (*Chlamydia psittaci* feline pneumonitis agent) acquired from a cat: case report with molecular characterization of isolates from the patient and cat. *Journal of Infection*, 43 (1), 7-11.
- Hartmann, A.D., Hawley, J., Werckenthin, C., Lappin, M.R. & Hartmann, K. (2010). Detection of bacterial and viral organisms from the conjunctiva of cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12 (10), 775-82.
- Hartmann, A.D., Helps, C.R., Lappin, M.R., Werckenthin, C. & Hartmann, K. (2008). Efficacy of Pradofloxacin in Cats with Feline Upper Respiratory Tract Disease due to *Chlamydophila felis* or *Mycoplasma* Infections. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (1), 44-52.
- Hartmann, K. (2008). Antiviral chemotherapy in veterinary medicine [versão electrónica]. In *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2008*. Acedido em Fev. 10, 2014 em: <http://www.vin.com/Members/Proceedings/Proceedings.plx?CID=ACVIM2008&PID=PR23012&O=VIN>
- Hartmann, K. (2012). Antiviral and immunomodulatory chemotherapy. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 10-24). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Helps, C.R., Lait, P., Damhuis, A., Björnehammar, U., Bolta, D., Brovida, C., Chabanne, L., Egberink, H., Ferrand, G., Fontbonne, A., Pennisi, M.G., Gruffydd-Jones, T., Gunn-Moore, D., Hartmann, K., Lutz, H., Malandain, E., Möstl, K., Stengel, C., Harbour, D.A. & Graat, E.A. (2005). Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydophila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. *Veterinary Record*, 156 (21), 669-673.
- Hendrix, V.H. (2009). Differential diagnosis of the red eye. In J.D. Bonagura & D.C. Tewdt (Eds.), *In Kirk's current veterinary therapy XIV*. (14th ed.). (pp. 1175-1178). Missouri: Saunders Elsevier.
- Hendrix, V.H. (2013). Diseases and surgery of the canine conjunctiva and nictitating membrane. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 945-975). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Hillström, A., Tvedten, H., Källberg, M., Hanas, S., Lindhe, A. & Holst, B.S. (2012). Evaluation of cytologic findings in feline conjunctivitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (2), 283-290.

- Hollingsworth, S.R. (2009). Ocular immunotherapy. In J.D. Bonagura & D.C. Tewdt (Eds.), In *Kirk's current veterinary therapy XIV*. (14th ed.). (pp. 1149-1153). Missouri: Saunders Elsevier.
- Holst, B.S., Krook, L., Englund, S., Lagerstedt, A.S. & Bölske, G. (2011). Shedding of chlamydiae in relation to titers of serum chlamydiae-specific antibodies and serum concentrations of two acute-phase proteins in cats without conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 72 (6), 806-812.
- Hurley, K.E., Pesavento, P. A., Pedersen, N.C., Poland, A.M., Wilson, E., & Foley, J. E. (2004). An outbreak of virulent systemic feline calicivirus disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224 (2), 241–249.
- Hurley, K.F. & Sykes, J.E. (2003). Update on feline calicivirus: new trends. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33 (4), 759-772.
- Infarmed (2014). Antivíricos. Acedido em Mar. 16, 2014, disponível em: <http://www.infarmed.pt/prontuario/framepesactivos.php?palavra=ganciclovir&x=0&y=0&rb1=0>
- Johnson, L.R., Foley, J.E., De Cock, H.E., Clarke, H.E. & Maggs, D.J. (2005). Assessment of infectious organisms associated with chronic rhinosinusitis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227 (4), 579-585.
- Katze, M.G., He, Y. & Gale, M. (2002). Viruses and interferon: a fight for supremacy. *Nature Reviews Immunology*, 2 (9), 675-687.
- Kerlin, R.L. & Dubielzig, R.R. (1997). Lipogranulomatous conjunctivitis in cats [abstract]. *Veterinary and Comparative Ophthalmology*, 7 (3), 177–179.
- Ketring, K.L. & Glaze, M.B. (2012). *Atlas of feline ophthalmology*. (2nd ed.) Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Kompare, B., Litster, A.L., Leutenegger, C.M. & Weng, H.Y. (2013). Randomized masked controlled clinical trial to compare 7-day and 14-day course length of doxycycline in the treatment of *Mycoplasma felis* infection in shelter cats. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 36 (2), 129– 135.
- La Croix, N.C., van der Woerd, A. & Olivero, D.K. (2001). Nonhealing corneal ulcers in cats: 29 cases (1991-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218 (5), 733-735.
- Lappin, M.R. (2010). Laboratory diagnosis of infectious diseases. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine*. (7th ed.). (pp. 847-853). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Lappin, M.R., Andrews, J., Simpson, D. & Jensen, W.A. (2002). Use of serologic tests to predict resistance to feline herpesvirus 1, feline calicivirus, and feline parvovirus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220 (1), 38-42.
- Ledbetter, E.C. (2013). Clinical approach to conjunctivitis [versão electrónica]. In *Proceedings of the 38th Congress of the World Small Animal Veterinary Association, Auckland, New Zealand, 6-9 March*. Acedido em Ago. 12, 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WSAVA2013&PID=87488&O=VIN&id=5709767>

- Liehmman, L., Degasperi, B., Spargser, J. & Niebauer, G.W. (2006). *Mycoplasma felis* arthritis in two cats. *Journal of Small Animal Practice*, 47 (8), 476-479.
- Lim, C.C. & Cullen, C.L. (2005). Schirmer tear test values and tear film break-up times in cats with conjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 8 (5), 305-310.
- Lim, C.C., Reilly, C.M., Thomasy, S.M., Kass, P.H. & Maggs, D.J. (2009). Effects of feline herpesvirus type 1 on tear film break-up time, Schirmer tear test results, and conjunctival goblet cell density in experimentally infected cats. *American Journal of Veterinary Research*, 70 (3), 394-403.
- Litster, A.L., Wu, C.C. & Constable, P.D. (2012). Comparison of the efficacy of amoxicillin-clavulanic acid, cefovecin, and doxycycline in the treatment of upper respiratory tract disease in cats housed in an animal shelter. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241 (2), 218-226.
- Longbottom, D. & Coulter, L.J. (2003). Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of Comparative Pathology*, 128 (4), 217-244.
- Low, H.C., Powell, C.C., Veir, J.K., Hawley, J.R. & Lappin, M.R. (2007). Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydomphila felis*, and *Mycoplasma* spp DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 68 (6), 643-648.
- Lyon, K.F. (2005). Gingivostomatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 35 (4), 891-911.
- MacLachlan, N.J. & Dubovi, E.J. (2011a). *Caliciviridae*. In N.J. MacLachlan & E. J. Dubovi (Eds.), *Fenner's veterinary virology*. (4th ed.). (pp. 443-450). San Diego, USA: Elsevier.
- MacLachlan, N.J. & Dubovi, E.J. (2011b). *Herpesvirales*. In N.J. MacLachlan & E. J. Dubovi (Eds.), *Fenner's veterinary virology*. (4th ed.). (pp. 179-202). San Diego, USA: Elsevier.
- Maes R. (2012). Felid herpesvirus type 1 infection in cats: a natural host model for alphaherpesvirus pathogenesis. *ISRN Veterinary Science*, 14, 495830.
- Maggs, D.J. (2005). Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of feline herpesvirus type 1. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20 (2), 94-101.
- Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2004). In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine, and acyclovir against feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research*, 65 (4), 399-403.
- Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2005). Relative sensitivity of polymerase chain reaction assays used for detection of feline herpesvirus type 1 DNA in clinical samples and commercial vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, 66 (9), 1550-1555.
- Maggs, D.J., (2002a). Laboratory investigation of ophthalmic disease. In S. Petersen-Jones & S. Crispin (Eds.), *BSAVA manual of small animal ophthalmology*. (2nd ed.). (pp.23-29). England: BSAVA.
- Maggs, D.J. (2002b). KCS & the dry eye problem [versão eletrônica]. In *Proceedings of the 2002 Western Veterinary Conference*. Acedido em Ago. 21, 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WVC2002&PID=892&O=VIN&id=3844512>.

- Maggs, D.J. (2008a). Basic diagnostic techniques. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (4th ed.). (pp. 81-106). Missouri: Saunders Elsevier.
- Maggs, D.J. (2008b). Conjunctiva. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (4th ed.). (pp. 135-150). Missouri: Saunders Elsevier.
- Maggs, D.J. (2008c). Cornea and sclera. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (4th ed.). (pp. 175-202). Missouri: Saunders Elsevier.
- Maggs, D.J. (2008d). Ocular pharmacology and therapeutics. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (4th ed.). (pp. 33-61). Missouri: Saunders Elsevier.
- Maggs, D.J. (2010a). Antiviral therapy for feline herpesvirus infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40 (6), 1055-1062.
- Maggs, D.J. (2011). Blepharitis and conjunctivitis – all you need to know and more! [versão electrónica]. In *International Society of Feline Medicine (ISFM) Feline Veterinary Congress 2011, Vienna, Austria, 23-26 June*. Acedido em 13 Set., 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=ISFM2011&PID=85406&O=VIN>
- Maggs, D.J. (2012a). Diagnostic approach to cats with keratoconjunctivitis [versão electrónica]. In *Proceedings of the Western Veterinary Conference 2012, Las Vegas, Nevada, 19-23 February*. Acedido em 13 Set., 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/Proceedings.plx?CID=WVC2012&PID=86151&O=VIN>
- Maggs, D.J. (2012b). Treating cats with keratoconjunctivitis [versão electrónica]. In *Proceedings of the Western Veterinary Conference 2012, Las Vegas, Nevada, 19-23 February*. Acedido em 13 Set., 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WVC2012&PID=86152&O=VIN>
- Maggs, D.J. (2013a). Conjunctiva. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (5th ed.). (pp. 140-158). Missouri: Saunders Elsevier.
- Maggs, D.J. (2013b). The golden rules of corneal ulcer management [versão electrónica]. In *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association World Congress 2013, Auckland, New Zeland, 6-9 March*. Acedido em 8 Ago. 2014, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WSAVA2013&PID=87494&O=VIN>
- Maggs, D.J., Collins, B.K., Thorne, J.G. & Nasisse, M.P. (2000). Effects of L-lysine and L-arginine on in vitro replication of feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research*, 61 (12), 1474 –1478.
- Maggs, D.J., Lappin, M.R., Reif, J.S., Collins, J.K., Carman, J., Dawson, D.A. & Bruns, C. (1999). Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpesvirus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214 (4), 502-507.

- Maggs, D.J., Nasisse, M.P. & Kass, P.H. (2003). Efficacy of oral supplementation with L-lysine in cats latently infected with feline herpesvirus. *American Journal of Veterinary Research*, 64 (1), 37–42.
- Maggs, D.J., Sykes, J.E., Clarke, H.E., Yoo, S.H., Kass, P.H., Lappin, M.R., Rogers, Q.R. Waldron, M.K. & Fascetti, A.J. (2007). Effects of dietary lysine supplementation in cats with enzootic upper respiratory disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9 (2), 97–108.
- Marsilio, F., Di Martino, B., Decaro, N. & Buonavoglia, C. (2005). A novel nested PCR for the diagnosis of calicivirus infections in the cat. *Veterinary Microbiology*, 105 (1), 1-7.
- Martin, C.L. (2010a). Anamnesis and the ophthalmic examination. In C.L. Martin (Ed.), *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. (pp. 11-40). London: Manson Publishing.
- Martin, C.L. (2010b). Conjunctiva and third eyelid. In C.L. Martin (Ed.), *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. (pp. 183-218). London: Manson Publishing.
- Martin, C.L. (2010c). Lacrimal system. In C.L. Martin (Ed.), *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. (pp. 219-240). London: Manson Publishing.
- Martin, C.L. (2010d). Ophthalmic pharmacology. In C.L. Martin (Ed.), *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. (pp. 11-40). London: Manson Publishing.
- Masubuchi, K., Nosaka, H., Iwamoto, K., Kokubu, T., Yamanaka, M., & Shimizu, Y., (2002). Experimental infection of cats with *Chlamydomydia felis*. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (12), 1165-1168.
- Messias, A., Gekeler, F., Wegener, A., Dietz, K., Kohler, K. & Zrenner, E. (2008). Retinal safety of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, in cats: assessment with electroretinography. *Documenta Ophthalmologica*, 116 (3), 177-191.
- Miller, P.E. (2008). The lacrimal system. In D.J. Maggs, P.E. Miller & R. Ofri (Eds.), *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. (4th ed.). (pp. 157-174). Missouri: Saunders Elsevier.
- Moore, C.P. & Nasisse, M.P. (1999). Clinical microbiology. In K.N. Gelatt (Ed.), *Veterinary ophthalmology*. (3rd ed.). (pp. 259-290). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Moore, P.A. (2005). Feline corneal disease. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20 (2), 83-93.
- Morgan, R & Rothrock, K. (2012). *Chlamydial conjunctivitis*. Acedido em Jan. 29, 2014, disponível em: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=752>
- Nasisse, M.P., Glover, T.L., Moore, C.P. & Weigler, B.J. (1998). Detection of feline herpesvirus 1 NA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 59 (7), 856-858.
- Nasisse, M.P., Guy, J.S., Davidson, M.G., Sussman, W.A. & Fairley, N.M. (1989). Experimental ocular herpesvirus infection in the cat. Sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 30 (8), 1758–1768.

- O'Dair, H.A., Hopper, C.D., Gruffydd-Jones, T.J., Harbour, D.A. & Waters, L. (1994). Clinical aspects of *Chlamydia psittaci* infection in cats infected with feline immunodeficiency virus [abstract]. *Veterinary Record*, 134 (15), 365-368.
- Otranto, D. & Traversa, D. (2005). *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode. *TRENDS in Parasitology*, 21 (1), 1-4.
- Owen, W.M., Sturgess, C.P., Harbour, D.A., Egan, K. & Gruffydd-Jones, T.J. (2003). Efficacy of azithromycin for the treatment of feline chlamydophilosis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5 (6), 305-311.
- Petersen-Jones, S. & Stanley, R. (2009). Ocular discharge. In R.L. Peiffer & S.M. Petersen-Jones (Eds.), *Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach*. (4th ed.) (pp. 253-293). Saunders Elsevier.
- Pedersen, N.C., Elliott, J.B., Glasgow, A., Poland, A. & Keel, K. (2000). An isolated epizootic of hemorrhagic-like fever in cats caused by a novel and highly virulent strain of feline calicivirus. *Veterinary Microbiology*, 73 (4), 281–300.
- Pesavento, C., Chang, K.O. & Parker, J.S.L. (2008). Molecular virology of feline calicivirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38 (4), 775-786.
- Pesavento, P., MacLachlan, N.J., Dillard-Telm, L., Grant, C.K., & Hurley, K.F. (2004). Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats. *Veterinary Pathology*, 41 (3), 257–263.
- Pesavento, P.A., Stokol, T., Liu, H., van der List, D.A., Gaffney, P.M. & Parker, J.S. (2011). Distribution of the feline calicivirus receptor junctional adhesion molecule a in feline tissues. *Veterinary Pathology*, 48 (2), 361-368.
- Pimenta, P., Cardoso, L., Pereira, M.J., Maltez, L., Coutinho, T., Alves, M.S. & Otranto, D. (2013). Canine ocular thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Veterinary Ophthalmology*, 16 (4), 312–315.
- Plumb, D.C. (2011). *Plumb's veterinary drug handbook*. (7th ed.). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Powell, C.C. (2003). Feline conjunctivitis [versão eletrônica]. In *Proceedings of the Western Veterinary Conference 2003*. Acedido em Jun. 26, 2014, disponível em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WVC2003&PID=3159&O=VIN>
- Prescott, L.M., Klein, D.A. & Hartley, J.P. (2005). Appendix IV: Classification of procaryotes according to the second edition of Bergey's Manual of systematic bacteriology. In L.M. Prescott, D.A. Klein & J.P. Hartley (Eds.), *Microbiology*. (5th ed.). (pp. 27-24). New York: McGraw-Hill.
- Pressler, B.M. (2012). Candidiasis and Rhodotorulosis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 666-672). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J. & Leonard F.C. (2002). Mycoplasmas. In P.J. Quinn, B. K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly & F.C. Leonard (Eds.), *Veterinary microbiology and microbial disease*. (pp. 189-196). Oxford: Blackwell Publishing.
- Radford, A.D., Coyne, K.P., Dawson, S., Porter, C.J. & Gaskell, R.M. (2007). Feline calicivirus. *Veterinary Research*, 38 (2), 319-335.

- Radford, A.D., Dawson, S., Coyne, K.P., Porter, C.J. & Gaskell, R.M. (2006). The challenge for the next generation of feline calicivirus vaccines. *Veterinary Microbiology*, 117 (1), 14-18.
- Rampazzo, A., Appino, S., Pregel, P., Tarducci, A., Zini, E. & Biolatti, B. (2003). Prevalence of *Chlamydophila felis* and feline herpesvirus 1 in cats with conjunctivitis in northern Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17 (6), 799-807.
- Ramsey, D.T. (2000). Feline chlamydia and calicivirus infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30 (5), 1015-1128.
- Ramsey, D.T. (2010a). Ocular manifestations of feline herpesvirus – part I [versão electrónica]. In *Proceedings of the 82nd Annual Western Veterinary Conference, 14-18 February*. Acedido em Ago. 26, 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/Proceedings.plx?CID=WVC2010&Category=&PID=54751&O=VIN>
- Ramsey, D.T. (2010b). Ocular manifestations of feline herpesvirus – part II [versão electrónica]. In *Proceedings of the 82nd Annual Western Veterinary Conference, 14-18 February*. Acedido em Ago. 26, 2013, em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=WVC2010&PID=54752&O=VIN>
- Rand, J. (2006). *Problem-based feline medicine*. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Raskin, R.E. (2009). Ocular cytology of inflammatory, cystic, traumatic & neoplastic lesions in cats & dogs [versão electrónica]. In *Proceedings of the ACVIM Forum & Canadian VMA 2009, 3-6 June*. Acedido em Set. 5, 2014, disponível em: <http://www.vin.com/members/proceedings/proceedings.plx?CID=ACVIM2009&PID=51465&O=VIN>
- Raskin, R.E. (2010). Eyes and adnexa. In R.E. Raskin & D.J. Meyer (Eds.), *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide*. (2nd. Ed.). (pp. 321-390). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Rao, S.N. (2006). Treatment of herpes simplex virus stromal keratitis unresponsive to topical prednisolone 1% with topical cyclosporine 0.05%. *American Journal of Ophthalmology*, 141 (4), 771-772.
- Read, R.A. & Lucas, J. (2001). Lipogranulomatous conjunctivitis: clinical findings from 21 eyes in 13 cats. *Veterinary Ophthalmology*, 4 (2), 93-98.
- Rees, T.M. & Lubinski, J.L. (2008). Oral supplementation with L-lysine did not prevent upper respiratory infection in a shelter population of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10 (5), 510–513.
- Reynolds, B.S., Poulet, H., Pingret, J.L., Jas, D., Brunet, S., Lemeter, C., Boucraut-Baralon, C., Etievant, M. & Boucraut-Baralon, C. (2009). A nosocomial outbreak of feline calicivirus associated virulent systemic disease in France. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11 (8), 633–644.
- Richards, J.R., Elston, T.H., Ford, R.B., Gaskell, R.M., Hartmann, K., Hurley, K.F., Lappin, M.R., Levy, J.K., Rodan, I., Scherk, M., Schultz, R.D. & Sparkes, A.H. (2006). The 2006 American Association of Feline Practitioners Feline Vaccine Advisory Panel report. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229 (9), 1405-1441.

- Rodrigues, F.T., Cardoso, L., Coutinho, T., Otranto, D. & Diz-Lopes, D. (2012). Ocular thelaziosis due to *Thelazia callipaeda* in a cat from northeastern Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14 (12), 952-954.
- Rosolen, S.G., Multari, D., Woods, M. & Jongh, O. (2009). Diagnostics. In R.L. Peiffer & S.M. Petersen-Jones (Eds.), *Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach*. (4th ed.) (pp. 14-49). Saunders Elsevier.
- Rothrock, K. (2012). Feline Mycoplasmosis (nonhemotrophic). Acedido em Set. 30, 2013, em:
<http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5500>
- Ruch-Gallie, R.A., Veir, J.K., Spindel M.E. & Lappin, M.R. (2008). Efficacy of amoxycillin and azithromycin for the empirical treatment of shelter cats with suspected bacterial upper respiratory infections. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10 (6), 542-550.
- Sandmeyer, L.S., Waldner, C.L., Bauer, B.S., Wen, X. & Bienzle, D. (2010). Comparison of polymerase chain reaction tests for diagnosis of feline herpesvirus, *Chlamydophila felis*, and *Mycoplasma* spp. infection in cats with ocular disease in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 51 (6), 629-633.
- Scherk, M.A., Ford, R.B., Gaskell, R.M., Hartmann, K., Hurley, K.F., Lappin, M.R., Levy, J.K., Little, S.E., Nordone, S.K. & Sparkes, A.H. (2013). AAFP Feline Vaccination Advisory Panel report. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15 (9), 785-808.
- Sieback, N., Hurley, D.J., Garcia, M., Greene, C.E., Köstlin, R.G., Moore, P.A. & Dietrich, U.M. (2006). Effects of human recombinant alpha-2b interferon and feline recombinant omega interferon on in vitro replication of feline herpesvirus-1. *American Journal of Veterinary Research*, 67 (8), 1406-1411.
- Sila, G.H. & Davidson, H.J. (2011). Eosinophilic keratitis. In G.D. Norsworthy, M.A. Crystal, S.F. Grace & L.P. Tilley (Eds.), *The feline patient*. (4th ed.). (pp. 157-158). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Sjödahl-Essén, T., Tidholm, A., Thorén, P., Persson-Wadman, A., Bölske, G., Aspán, A. & Berndtsson, L.T. (2008). Evaluation of different sampling methods and results of real-time PCR for detection of feline herpes virus-1, *Chlamydophila felis* and *Mycoplasma felis* in cats. *Veterinary Ophthalmology*, 11 (6), 375-380.
- Slack, J.M., Stiles, J., Leutenegger, C.M., Moore, G.E. & Pogranichniy, R.M. (2013). Effects of topical ocular administration of high doses of human recombinant interferon alpha-2b and feline recombinant interferon omega on naturally occurring viral keratoconjunctivitis in cats [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 74 (2), 281-219.
- Slatter, D. (2001). Conjunctiva. In D. Slatter (Ed.), *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. (3th ed.). (pp. 204-224). Philadelphia: Saunders.
- Soares, C., Sousa, S.R., Anastácio, S., Matias, M.G., Marquês, I., Mascarenhas, S., Vieira, M.J., Carvalho, L.M. & Otranto, D. (2013). Feline thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 196 (3-4), 528-531.
- Söderlund, R., Bölske, G., Holst, B.S. & Aspán, A. (2011). Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction method for the detection of *Mycoplasma felis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23 (5), 890-893.

- Sparkes, A.H., Caney, S.M., Sturgess, C.P., Gruffydd-Jones, T.J. (1999). The clinical efficacy of topical and systemic therapy for the treatment of feline ocular chlamydiosis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 1 (1), 31-35.
- Spiess, A.K., Sapienza, J.S. & Mayordomo, A. (2009). Treatment of proliferative feline eosinophilic keratitis with topical 1.5% cyclosporine: 35 cases. *Veterinary Ophthalmology*, 12 (2), 132–137.
- Stiles J., McDermott, M., Bigsby, D., Willis, M., Roberts, W. & Greene, C. (1997). Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying feline herpesvirus in cats with conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 58 (8), 804-807.
- Stiles J., Townsend, W.M., Rogers, Q.R. & Krohne, S.G. (2002). Effect of oral administration of L-lysine on conjunctivitis caused by feline herpesvirus in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (1), 99–103.
- Stiles, J. (2003). Feline herpesvirus. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18 (3), 178-185.
- Stiles, J. (2012). Ocular infections. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 1058-1077). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Stiles, J. (2013). Feline ophthalmology. In K.N. Gelatt, B.C. Gilger & T.J. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology*. (5th ed.) (pp. 1477-1559). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Stiles, J. (2014). Ocular manifestations of feline viral diseases. *The Veterinary Journal*.
- Storey, E.C., Gerding, P.A., Scherba, G. & Schaeffer, D.J. (2002). Survival of equine herpesvirus-4, feline herpesvirus-1, and feline calicivirus in multidose ophthalmic solutions. *Veterinary Ophthalmology*, 5 (4), 263-267.
- Sturgess, C.P., Gruffydd-Jones, T.J., Harbour, D.A. & Jones, R.L. (2001). Controlled study of the efficacy of clavulanic acid-potentiated amoxycillin in the treatment of *Chlamydia psittaci* in cats [abstract]. *Veterinary Record*, 49 (3), 73-76.
- Sykes, J.E. & Hartmann, K. (2013). Feline leukemia virus infection. In J.E. Sykes (Ed.). *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 224-238). Missouri: Elsevier.
- Sykes, J.E & Papich, M.G. (2013a). Antimicrobial drugs. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 66-86). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E & Papich, M.G. (2013b). Antiviral and immunomodulatory Drugs. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 54-65). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E & Rankin, S.C. (2013a). Isolation in cell culture. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 2-9). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E & Rankin, S.C. (2013b). Nucleic acid detection assays. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 37-45). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E. & Greene, C.E. (2012). Chlamydial infections. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 270-276). Missouri: Saunders-Elsevier.
- Sykes, J.E. (2005). Feline chlamydiosis. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20, 129-134.

- Sykes, J.E. (2013a). Chlamydial infections. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 328-333). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E. (2013b). Feline respiratory viral infections. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 239-251). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E. (2013c). Mycoplasma infections. In J.E. Sykes (Ed.), *Canine and feline infectious diseases*. (pp. 382-389). Missouri: Elsevier Saunders.
- Sykes, J.E., Allen, J.L., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (2001). Detection of feline calicivirus, feline herpesvirus 1 and *Chlamydia psittaci* mucosal swabs by multiplex RT-PCR/ PCR. *Veterinary Microbiology*, 81 (2), 95-108.
- Sykes, J.E., Anderson, G.A., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (1999b). Prevalence of feline *Chlamydia psittaci* and feline herpesvirus 1 in cats with upper respiratory tract disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13 (3), 153-162.
- Sykes, J.E., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (1998). Detection and strain differentiation of feline calicivirus in conjunctival swabs by RT-PCR of the hypervariable region of the capsid protein gene. *Archives of Virology*, 143 (7), 1321-1334.
- Sykes, J.E., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (1999a). Comparison of the polymerase chain reaction and culture for the detection of feline *Chlamydia psittaci* in untreated and doxycycline-treated experimentally infected cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13 (3), 146-152.
- TerWee, J., Sabara, M., Kokjohn, K., Sandbulte, J., Frenchick, P. & Dreier, K.J. (1998). Characterization of the systemic disease and ocular signs induced by experimental infection with *Chlamydia psittaci* in cats. *Veterinary Microbiology*, 59 (4), 259–281.
- Rosolen, S.G., Multari, D., Woods, M. & Jongh, O. (2009). Diagnostics. In R.L. Peiffer & S.M. Petersen-Jones (Eds.), *Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach*. (4th ed.) (pp. 14-49). Saunders Elsevier.
- Townsend, W., Bedford, P. & Jones, G. (2009). Abnormal appearance. In R.L. Peiffer & S.M. Petersen-Jones (Eds.), *Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach*. (4th ed.) (pp. 67-115). Saunders Elsevier.
- Townsend, W.M., Stiles, J., Guptill-Yoran, L. & Krohne, S.G. (2004). Development of a reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay to detect feline herpesvirus-1 latency-associated transcripts in the trigeminal ganglia and corneas of cats that did not have clinical signs of ocular disease. *American Journal of Veterinary Research*, 65 (3), 314-319.
- Veir, J.K. & Lappin, M.R. (2010). Molecular diagnostic assays for infectious diseases in cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40 (6), 1189-1200.
- Veir, J.K. (2011). The changing face of feline mycoplasmas [versão electrónica]. In *Proceedings of the 2011 American Board of Veterinary Practitioners Symposium*, 28 April – 1 May. Acedido em Jan. 13, 2014, em: <http://www.vin.com/Members/Proceedings/Proceedings.plx?CID=abvp2011&PID=pr63081&O=VIN>
- Volopich, S., Benetka, V., Schwendenwein, I., Möstl, I., Sommerfeld-Stur, I. & Nell, B. (2005). Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydomphila felis* antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Veterinary Ophthalmology*, 8 (1), 25–32.

- von Bomhard, W., Polkinghorne, A., Lu, Z.H, Vaughan, L., Vögtlin, V., Zimmermann, D.R., Spiess, B. & Pospischil, A. (2003). Detection of novel chlamydiae in cats with ocular disease. *American Journal of Veterinary Research*, 64 (11), 1421–1428.
- Walker, A.L., Jang, S.S. & Hirsh, D.C. (2000). Bacteria associated with pyothorax of dogs and cats: 98 cases (1989-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216 (3), 359-363.
- Waters, L. & Barnett, K.C. (2004). The eye. In E.A. Chandler, C.J. Gaskell & R.M. Gaskell (Eds.), *Feline medicine and therapeutics*. (3rd ed.). (pp. 454-492). Oxford: Blackwell Publishing.
- Westermeyer, H.D., Kado-Fong, H. & Maggs, D.J. (2008). Effects of sampling instrument and processing technique on DNA yield and detection rate for feline herpesvirus-1 via polymerase chain reaction assay. *American Journal of Veterinary Research*, 69 (6), 811-817.
- Whitley, R.D. (2000). Canine and feline primary ocular bacterial infection. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30 (5), 1151-67.
- Willey, J.M., Sherwood, L.M. & Woolverton, C.J. (2009a). The Deinococci and Gram-Negative Nonproteobacteria. In J.M. Willey, L.M. Sherwood & C.J. Woolverton (Eds.), *Prescott's principles of microbiology*. (7th ed.). (pp. 420-438). New York: McGraw-Hill.
- Willey, J.M., Sherwood, L.M. & Woolverton, C.J. (2009b). The low G + C gram-positive bacteria. In J.M. Willey, L.M. Sherwood & C.J. Woolverton (Eds.), *Prescott's principles of microbiology*. (7th ed.). (pp. 474-498). New York: McGraw-Hill.
- Willoughby, K. & Bennet, M. (2004). Other infections. In E.A. Chandler, R.M. Gaskell & C.J. Gaskell (Eds.), *Feline medicine and therapeutics*. (3rd ed.). (pp. 679-696). Oxford: Blackwell Publishing.
- Young, K.M. & Prasse, K.W. (2008). The eyes and associated structures. In R.L. Cowell, D.B. DeNicola, J.H. Meinkoth & R.D. Tyler (Eds.), *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (3rd ed.). (pp. 149-172). Mosby Elsevier.
- Young, K.M. (2013). Eyes and associated structures. In R.L. Cowell & A.C. Valenciano (Eds.), *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (4th ed.). (pp. 149-171). St. Louis: Mosby Elsevier.
- Zeugswetter, F., Hittmair, C.M., Arespachaga, A.G., Shibly, S. & Spargser, J. (2007). Erosive polyarthritis associated with *Mycoplasma gateae* in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9 (3), 226-31.

ANEXOS

Anexo 1: Tabela com testes de PCR *real-time* realizados.

PCR HVF-1	PCR <i>C. felis</i>	PCR <i>M. felis</i>	PCR CVF
POS	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NEG	NEG
NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NEG	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
POS	NA	NA	NA
NEG	POS	NEG	NA
POS	NA	NA	NA
POS	NEG	NA	NA
POS	NA	NA	NA
NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG
POS	NA	NA	NA
NEG	POS	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NA	NA	NA
POS	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA

Anexo 1: (continuação) Tabela com testes de PCR *real-time* realizados.

NA	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	NA	NA	NA
NEG	NEG	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
NEG	POS	NEG	NEG
NA	NA	NA	NA
NA	NA	NA	NA
POS	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NA	NEG
POS	NA	NA	NA
POS	NEG	NEG	NEG

NA – não analisado; POS – positivo; NEG - negativo

Anexo 2: Tabelas de contingência das variáveis categóricas investigadas.

Tabela 1. Correlação entre a presença de queratite e detecção de HVF-1 por PCR.

		HVF-1		Total	
		-	+		
Queratite	Não	16 (51,6%)	7 (21,6%)	23	$p = 1$
	Sim	5 (16,1%)	3 (9,7%)	8	
	Total	21	10	31	

Tabela 2. Correlação entre presença de sinais associados ao tracto respiratório superior e detecção de HVF-1 por PCR *real-time*.

		HVF-1		Total	
		-	+		
Sinais do tracto respiratório superior	Ausentes	16 (51,6%)	4 (12,9%)	20	$p = 0,106$
	Presentes	5 (16,1%)	6 (19,4%)	11	
	Total	21	10	31	

Tabela 3. Correlação entre o factor de risco associado ao ambiente estilo de vida e detecção de HVF-1 por PCR.

		HVF-1		Total	
		-	+		
Tipo de vida	Sem acesso ao exterior	18 (58,1%)	7 (22,6%)	21	$p = 0,358$
	Com acesso ao exterior	3 (9,7%)	3 (9,7%)	6	
	Total	21	10	31	

